BRAGANTIA

Boletim Técnico da Divisão de Experimentação e Pesquisas
INSTITUTO AGRONÔMICO

Vol. 7 Campinas, Março de 1947 N.° 3

Sumário

Corte de tubérculos de cará

PARTE I — Plantio de tubérculos inteiros, de metades transversais e longitudinais, com o mesmo pêso.

A. Pais de Camargo

Poliembrionia em *Citrus*

Sílvio Moreira
J. T. A. Gurgel
e
Lineu F. de Arruda

TH-MYCOLOGICAL INSTITUTE
12 APR. 1948
CO

Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo
Departamento da Produção Vegetal
CAIXA POSTAL, 28 — CAMPINAS
Estado de São Paulo — Brasil

DEPARTAMENTO DA PRODUÇÃO VEGETAL

SUPERINTENDENTE: — Teodureto de Camargo

DIVISÃO DE EXPERIMENTAÇÃO E PESQUISAS

(Instituto Agronômico)

DIRETOR: — F. Febeliano da Costa Filho

SUBDIVISÕES

SUBDIVISÃO DE GENÉTICA: — C. A. Krug.

Secção de Genética: — C. A. Krug, Álvaro Santos Costa, Luiz O. T. Mendes, Luiz Aristêo Nucci, Osvaldo da Silvejra Neves, Mário Vieira de Morais, Luiz Paolieri, Reinaldo Forster, Célio Novais Antunes.

Secção de Citologia: — A. J. T. Mendes, Cândida Helena Teixeira Mendes.

Secção de Introdução de Plantas Cultivadas: — Alcides Carvalho.

SUBDIVISÃO DE HORTICULTURA: — Sílvio Moreira.

Secção de Citricultura e Frutas Tropicais: — Sílvio Moreira, João Ferreira da Cunha, Otávio Galli, Otávio Bacchi, Carlos Roessing.

Secção de Olericultura e Floricultura: — Felisberto C. Camargo (Chefe efetivo), Olímpio de Toledo Prado (Chefe substituto), H. P. Krug, Leocádio de Sousa Camargo, Sebastião Alves.

Secção de Algodão: — Ismar Ramos, Valter Schmidt, Rui Miller Paiva, Mário J. Soubihe Sobrinho, P. V. C. Bittencourt, Orlando Rigitano, Joaquim Bento Rodrigues.

SUBDIVISÃO DE PLANTAS TÊXTEIS: — Ismar Ramos.

Secção de Algodão: — Ismar Ramos, Valter Schmidt, Rui Miller Paiva, Mário Decourt Homem de Melo, Heitor de Castro Aguiar, Edmur Seixas Martinelli.

Secção de Plantas Fibrosas Diversas: — J. M. Aguirre Júnior, Clovis Morais Piza, Júlio César Medina, Guilherme Augusto de Paiva Castro.

SUBDIVISÃO DE ENGENHARIA RURAL: — André Tosello.

Secção de Mecânica Agrícola: — André Tosello, Armando Foá, Lauro Rupp.

Secção de Irrigação, Drenagem e Defesa Contra Inundação: — Luiz Cerne, João B. Sigaud, Nelson Fernandes, Rino Tosello, Hernâni Godói.

Secção de Conservação do Solo: — J. Quintiliano A. Marques, Francisco Grohmann, José Bertoni, F. Moacir Aires de Alencar.

SUBDIVISÃO DE ESTAÇÕES EXPERIMENTAIS: — Paulo Cuba.

BRAGANTIA

Assinatura anual Cr $ 50,00.

Para agrônomos 50% de abatimento.

Tôda correspondência deve ser dirigida à Redação de BRAGANTIA — Caixa Postal, 28 CAMPINAS — Est. de São Paulo — BRASIL.

BRAGANTIA

Boletim Técnico da Divisão de Experimentação e Pesquisas
INSTITUTO AGRONÔMICO

Vol. 7 Campinas, Março de 1947 N.º 3

CORTE DE TUBÉRCULOS DE CARÁ

(*Dioscorea alata* L.)

PARTE I — Plantio de tubérculos inteiros, de metades transversais e longitudinais, com o mesmo pêso.

A. Pais de Camargo

INTRODUÇÃO

São muitas, como se sabe, as espécies cultivadas de cará. Entre nós, é plantada, para fins comerciais, quase que exclusivamente, *Dioscorea alata* L. Esta, e outras espécies, são propagadas plantando-se os tubérculos subterrâneos produzidos na base da planta. Algumas variedades da espécie *alata*, como a designada em São Paulo pelo nome de "Caipira", produzem, além dos subterrâneos, pequenos tubérculos aéreos, nas axilas das fôlhas, denominados "bulbilhos", por alguns autores (2). Quando bem desenvolvidos, êsses órgãos podem ser utilizados no plantio.

Nas culturas comerciais do Estado de São Paulo, domina a variedade "amarela", comum, mais conhecida por "cará mimoso", devido à superioridade na produção e na qualidade do produto. Esta variedade raramente produz tubérculos aéreos ; por isso, na sua propagação, são utilizados os tubérculos normais, subterrâneos.

Prefere-se, no entanto, plantar os tubérculos de tamanho pequeno ou médio (60 a 150 gr), por questão de preço (7). Não se dispondo, de quantidade suficiente dêles, torna-se necessário empregar tubérculos maiores, correspondentes aos tipos próprios para o mercado. Neste caso, as despesas crescem. Para diminuí-las, podemos cortar os tubérculos, aumentando assim a área plantada.

Para conhecermos o comportamento dos tubérculos cortados, comparados com inteiros comumente usados no plantio, foram executados diversos ensaios, que se iniciaram em 1939/40. Nessas experiências, cujos resultados vamos relatar neste trabalho, estudamos, comparativamente, os tratamentos correspondentes aos seguintes tipos de tubérculos : pequenos inteiros, metade basal, metade apical e metade lateral. Êsses três últimos trata-

mentos são resultantes do corte de tubérculos de tamanho mais ou menos dobrado, de modo a ficarem os pedaços com tamanho pràticamente equivalente ao dos tubérculos inteiros.

Ao todo, plantamos seis ensaios, dos quais 5 na Estação Experimental Central, de Campinas, e um na Estação Experimental de Tietê. Os 4 primeiros ensaios plantados foram considerados como preliminares, em virtude de alguns defeitos no plano. Os últimos, 5.° e 6.°, sem êsses defeitos, mais completos (ver quadro 1), constituem nova série, com plano definitivo, sendo seus resultados estudados separadamente e com maior rigor.

CARATERÍSTICOS DOS ENSAIOS

Nas experiências preliminares, entraram em competição 3 tratamentos : 1) "inteiro", ou seja o tubérculo inteiro, testemunha ; 2) "ponta", a metade apical do tubérculo ; 3) "base", a metade basal (Est. 1). Êstes dois últimos tratamentos são resultantes de cortes transversais dos tubérculos. Nos 5.° e 6.° ensaios, considerados definitivos, entrou, além dos tratamentos citados, o 4.°, aqui designado por "lateral", com metades resultantes do corte longitudinal.

O cará empregado foi o "mimoso", fichado como variedade 3, na Secção de Raízes e Tubérculos, do Instituto Agronômico. O pêso ou tamanho dos tubérculos inteiros e cortados foi mais ou menos uniforme em cada série de ensaios.

O quadro 1 resume os caraterísticos mais importantes dos seis ensaios estudados.

QUADRO 1

CARATERÍSTICOS DOS SEIS ENSAIOS DE CORTE DE TUBÉRCULOS DE CARÁ, INSTALADOS NAS ESTAÇÕES EXPERIMENTAIS DE CAMPINAS E TIETÊ

ENSAIOS	Data do plantio	Ciclo vegetativo Meses	Pêso dos tubérculos	DADOS DOS CANTEIROS			
				N.° de		Espaçamentos	Área
				linhas	Plts/ linha		
		N.°	gr			cm	m^2
1.° — Campinas 1939/40	5 fev.	8,0	50- 60	3	10	100 x 50	15,00
2.° — „ 1942/43	7 jan.	8,5	50- 60	3	10	100 x 50	15,00
3.° — „ 1943/44	10 dez.	7,5	50- 60	4	10	100 x 50	20,00
4.° — Tietê 1943/44	27 nov.	9,6	50- 60	3	10(*)	100 x 50	15,00
5.° — Campinas 1944/45	21 ago.	11,0	100-150	4	20	90 x 30	21,60
6.° — „ 1945/46	12 out.	10,5	100-150	4	20	90 x 30	21,60

(*) Os canteiros dêste ensaio tinham 5 linhas de 12 plantas cada. Na colheita foram despresadas as 2 linhas marginais e as primeiras e últimas plantas de cada linha, por serem bordaduras.

Os quatro primeiros ensaios foram plantados muito tardiamente, com tubérculos demasiadamente pequenos (1 e 7), e com espaçamento muito grande. Êsses defeitos foram corrigidos nos dois últimos ensaios, 5.º e 6.º, à base de resultados obtidos em ensaios de tamanho (7), de época de plantio e de espaçamento (3, 4, 5, 6).

"S T A N D"

Em todos os ensaios, com exceção do primeiro, foi contado o número de plantas nascidas (stand) em todos os canteiros, para se ter idéia da vitalidade dos tubérculos.

Resumimos, no quadro 2, as médias dos "stands", para cada tratamento, nos ensaios preliminares e definitivos.

QUADRO 2

"STANDS" RELATIVOS (PERCENTAGEM DE PLANTAS NASCIDAS POR CANTEIRO) OBTIDOS PARA CADA TRATAMENTO, NOS ENSAIOS DE CORTE DE TUBÉRCULOS DE CARÁ, INSTALADOS NAS ESTAÇÕES EXPERIMENTAIS DE CAMPINAS E DE TIETÊ

Médias de 4 repetições

ENSAIOS (*)	"STANDS" RELATIVOS — MÉDIOS			
	Tratamentos (Tipos de tub. usados)			
	Inteiro	Ponta	Base	Lateral
	%	%	%	%
2.º — Campinas — 1942/43	79,2	86,7	54,2	—
3.º — „ — 1943/44	99,4	97,5	98,1	79,4
4.º — Tietê — 1943/44	100,0	99,3	99,3	—
Médias dos ensaios preliminares	92,87	94,5	83,87	—
5.º — Campinas — 1944/45	92,8	73,8	80,9	24,7
6.º — „ — 1945/46	95,0	92,8	95,3	96,9
Médias dos ensaios definitivos	93,90	83,30	88,10	60,80

(*) Não consta o 1.º ensaio, de Campinas, por não ter sido contado o "stand".

Como vemos, e mais fàcilmente através da figura 1, os "stands", ou percentagens de pagamento, foram elevados em todos os tratamentos. Os tubérculos cortados longitudinalmente mostraram "stands" sensìvelmente mais baixos, denotando ser o processo de corte contra-indicado.

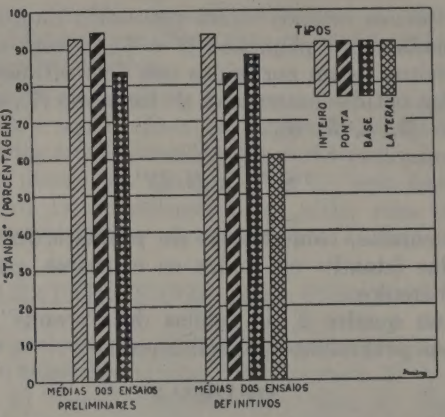


FIGURA 1 — Médias das percentagens de "stand" obtidas em cada tratamento dos ensaios de corte de tubérculos de cará.

PRODUÇÕES BRUTAS

Para estudar as produções brutas, por unidade de superfície, e para facilidade das comparações dos dados dos diferentes ensaios, cujos canteiros nem sempre tiveram as mesmas áreas, transformamos as produções médias obtidas em toneladas por hectare. Resumimos êsses dados no quadro 3, separando-os em dois grupos: um dos ensaios preliminares e outro dos definitivos.

QUADRO 3

PRODUÇÕES BRUTAS DOS DIFERENTES TRATAMENTOS ESTUDADOS NOS 6 ENSAIOS DE CORTE DE TUBÉRCULOS DE CARÁ, INSTALADOS NAS ESTAÇÕES EXPERIMENTAIS DE CAMPINAS E TIETÊ

Médias das 4 repetições

ENSAIOS	F - "Snedecor" para tratamentos	Produções brutas em Ton/Ha — Trat. (tipos de tub. usados)				Dif. min. significativa (P=5%)
		1 Inteiro	2 Ponta	3 Base	4 Lateral	
1.º Campinas — 1939/40 (Prelim.)	n.s.(*)	5,1	5,7	5,2	—	—
2.º ,, — 1942/43 ,,	a.s.(**)	1,9	3,5	3,2	—	± 0,85
3.º ,, — 1943/44 ,,	a.s.	6,0	2,5	2,0	1,9	± 0,95
4.º Tietê — 1943/44 ,,	n.s.	10,5	8,1	9 6	—	—
Médias dos ensaios preliminares..		5,88	4,95	5,00	—	—
5.º Campinas — 1944/45 (Defin.)	a.s.	14,4	11,4	10,3	6,7	± 2,00
6.º ,, — 1945/46 ,,	n.s.	18,7	15,9	16,3	15,7	—
Médias dos ensaios definitivos ...		16,55	13,65	13,30	11,20	—

(*) n.s. = F não significativo para tratamentos.
(**) a.s. = F altamente significativo para tratamentos.

Vemos, pelos dados dêste quadro, que as produções dos ensaios definitivos, 5.° e 6.°, foram bem mais elevadas que as dos preliminares. Êste fato se explica, como dissemos, por terem os primeiros ensaios suas produções prejudicadas pelo plantio atrasado e pelo emprêgo de tubérculos pequenos. A baixa produção verificada no tratamento n.° 4, "lateral", no 5.° ensaio, é muito possìvelmente consequência da alta percentagem de falhas verificadas nos canteiros dêsse tratamento. (Ver quadro 2).

Os dados das produções de todos os ensaios foram analisados individualmente, por meio de testes de "F" (8). Na segunda coluna do quadro 3 observa-se que o 2.° e 3.° ensaios preliminares foram altamente significativos, e que os outros dois, 1.° e 4.°, não foram significativos. Dentre os ensaios definitivos ou normais, "F" para tratamentos foi altamente significativo no 5.° ensaio, não o sendo no 6.°, aliás por pequena diferença, no caso de P=5%.

Baseando-se nas diferenças mínimas significativas, determinadas para P=5%, dados que se vêem na última coluna do quadro 3, pode-se deduzir: nos ensaios preliminares, todos os tratamentos apresentaram, de um modo geral, produções pràticamente iguais. As vantagens havidas a favor de certo tratamento, em determinado ensaio, foram contrabalançadas e anuladas em outro ensaio. Na série de ensaios preliminares, além disso, as produções foram extremamente baixas, razão pela qual os dados obtidos têm pouca significação.

Os dois ensaios considerados definitivos, 5.° e 6.°, foram reunidos e analisados conjuntamente. (1)

O quadro 4 resume os dados mencionados:

QUADRO 4

ANÁLISE CONJUNTA DOS DADOS DA PRODUÇÃO BRUTA DOS 5.° e 6.° ENSAIOS DE CORTE DE TUBÉRCULOS DE CARÁ, 1944/45 e 1945/46.

Origem da variação	Variação	G. L. (nf)	Variância	"F" Calculado	"F" P=5%
Total	2.289,58	31	73,85	—	—
Entre tratamentos	545,60	3	181,86	4,21 ns (*)	9,28
Entre blocos	143,19	6	23,86	2,68 s (**)	2,66
Êrro	160,41	18	8,91	—	—
Entre anos	1.310,72	1	1.310,72	30,33 as (***)	10,13
Interação ano x tratamento	129,66	3	43,22	4,85 s	3,16

(*) — ns = "F" não significativo.
(**) — s = "F" significativo para P = 5%
(***) — as = "F" altamente significativo (para P = 1%)

(1) Análises feitas por Armando Conagim, da Secção de Técnica Experimental e Cálculos, do Instituto Agronômico.

Tendo "F", nestes ensaios, sido significativo para interação x tratamento, e não significativo para tratamentos, não podemos concluir pela superioridade estatística de qualquer dos tratamentos quanto à produção bruta. Podemos verificar, no entanto, pelo teste "F", altamente significativo para "entre anos", que a influência do ano foi muito grande nas produções. Para chegarmos a resultados mais positivos, esta série de ensaios deve ser continuada por mais dois ou três anos.

Poderemos fazer uma idéia melhor das produções médias obtidas nos ensaios preliminares e nos dois definitivos, através da figura 2.

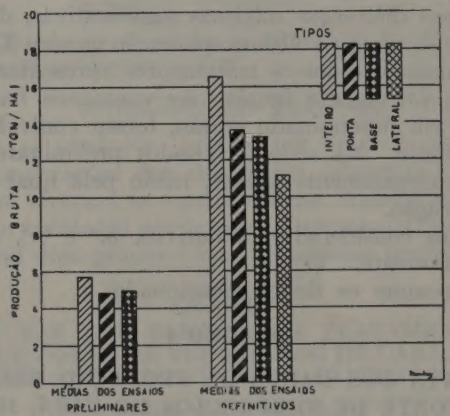


FIGURA 2 — Médias das produções brutas de cada tratamento estudado nos ensaios de corte de tubérculos de cará.

Pelos dados da figura 2 podemos observar que, tanto nos ensaios preliminares como nos definitivos, o tratamento n.º 1, plantado com tubérculos inteiros, deu maiores produções que qualquer dos tratamentos com tubérculos cortados, e que, entre êstes, as diferenças de produção foram bem mais baixas. Houve certa vantagem para as sementes cortadas transversalmente, sôbre as cortadas longitudinalmente. Essas diferenças, como vimos pela análise, não merecem muita fé, devendo os ensaios ser repetidos para confirmação dos resultados.

PESOS MÉDIOS DOS TUBÉRCULOS COLHIDOS

Para observarmos a influência dos diferentes tratamentos experimentados sôbre o tipo do produto colhido, contamos os tubérculos obtidos por

canteiro, baseando-nos na produção obtida, e calculamos os pesos médios dos tubérculos. Resumimos no quadro 5 as médias obtidas por tratamento, nos seis ensaios realizados.

QUADRO 5

PESOS MÉDIOS DOS TUBÉRCULOS COLHIDOS NOS ENSAIOS DE CORTE, NAS ESTAÇÕES EXPERIMENTAIS DE CAMPINAS E TIETÊ

Médias de 4 repetições

ENSAIOS	"F" para tratamento	Pêso médio, em gramas, dos tubérculos colhidos — TRATAMENTOS (Tipo dos tubérculos usados)				Dif. mín. significativa (P = 5%)
		1 (Test) Inteiro	2 Ponta	3 Base	4 Lateral	
		gr	gr	gr	gr	
1.º Campinas — 1939/40 (Prelim.)	n.s. (*)	35	48	48	—	—
2.º „ — 1942/43 „	n.s.	56	80	74	—	—
3.º „ — 1943/44 „	a.s. (**)	160	125	105	136	± 15,8
4.º Tietê — 1943/44 „	n.s.	100	121	77	—	—
Médias dos ensaios preliminares .		87,7	93,5	76,0	—	—
5.º Campinas — 1944/45 (Defin.)	a.s.	277	226	150	268	± 71,9
6.º „ — 1945/46 „	a.s.	220	238	155	225	± 36,5
Médias dos ensaios definitivos ...		248,5	232,0	152,5	246,5	

(*) n. s. = "F" não significativo para tratamentos.
(**) a. s. = "F" altamente significativo para tratamentos.

Pelos dados dêste quadro, e melhor pela figura 3, vê-se que os pesos médios (tamanho dos tubérculos colhidos), nos ensaios preliminares, foram muito inferiores aos dos definitivos. Isto é consequência, como vimos no caso da produção bruta, das condições mais favoráveis com que foram cultivados os dois últimos ensaios, 5.º e 6.º. Em ambos os grupos de ensaios, observa-se que o produto do tratamento 3, "base", apresentou pesos médios mais baixos que os obtidos nos demais tratamentos. Essas diferenças, entre pesos médios, foram significativas, na análise em três dos ensaios. Os dados dos ensaios definitivos foram analisados conjuntamente, estando os resultados reunidos no quadro 6.

QUADRO 6

ANÁLISE CONJUNTA DOS DADOS SÔBRE PÊSO MÉDIO DOS TUBÉRCULOS COLHIDOS NOS 5.º E 6.º ENSAIOS DE CORTE DE TUBÉRCULOS DE CARÁ.

Origem da variação	Variação (Sd^2)	G. L. (nf)	Variância (s^2)	"F"	
				calculado	Tabela 5%
Total	104.423	31	—	—	—
Entre tratamentos	55.725	3	18.575	14,64 as (*)	3,16
Entre blocos	10.386	6	1.731	1,36 ns(**)	2,66
Êrro	22.849	18	1.269	—	—
Entre anos	5.304	1	5.304	4,18 ns	4,41
Interação ano x tratamento	10.159	3	3.386	2,67 ns	3,16

(*) as — "F" altamente significativo (para P = 1%)
(**) ns — "F" não significtaivo.

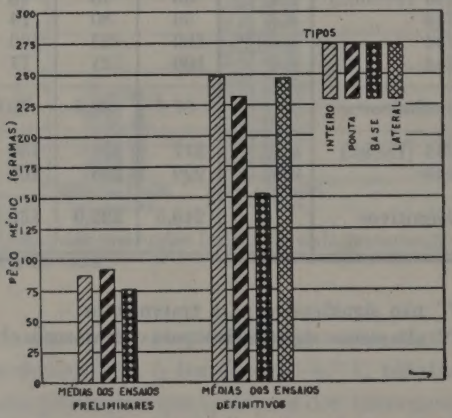


FIGURA 3 — Médias, por tratamentos, dos pesos médios dos tubérculos colhidos nos ensaios de corte.

Não tendo havido significância estatística para interação "ano x tratamento", e "F" tendo sido altamente significativo para tratamentos, podemos concluir que o tipo de semente revelou ter grande influência sôbre os pesos médios dos tubérculos colhidos. De fato, calculadas as diferenças mínimas significativas e as médias para cada tratamento, de ambos os ensaios (Ver quadro 7), verificamos que os tubérculos colhidos no tratamento 3, "base", são significativamente menores, isto é, de menor pêso médio que os produzidos nos demais tratamentos.

QUADRO 7

MÉDIAS DOS PESOS MÉDIOS OBTIDAS PARA OS TRATAMENTOS ESTUDADOS NOS 5.º E 6.º ENSAIOS DE CORTE DE TUBÉRCULOS DE CARÁ, COMPARADAS ENTRE SI E COM A DIFERENÇA MÍNIMA SIGNIFICATIVA PARA P = 5%

TRATAMENTOS (Tubérculos)	Pesos médios (Médias dos 5.º e 6.º Ens.)	Diferença sôbre o testemunha	
		Absoluta, em gramas	Relativa, em percentagem
4 — Lateral	258,5	+ 9,7	+ 3,9%
1 — Inteiro (Testemunha)	248,8	—	—
2 — Ponta	231,5	— 17,3	— 7,0%
3 — Base	152,5	— 96,3	— 38,7%
Dif. Mín. Signif. (P=5%)	—	± 37,4	—

NÚMERO DE TUBÉRCULOS COLHIDOS POR PLANTA

Para verificarmos a influência dos tratamentos sôbre o número médio de tubérculos produzidos por planta, dividimos, em cada ensaio, o número total de tubérculos produzidos por tratamento, pelo respectivo "stand". Os dados obtidos estão reunidos no quadro 8.

QUADRO 8

NÚMERO MÉDIO DE TUBÉRCULOS COLHIDOS POR PLANTA EM CADA TRATAMENTO, NOS ENSAIOS PRELIMINARES E DEFINITIVOS, DE CORTE DE TUBÉRCULOS DE CARÁ

ENSAIOS (*)	N.º médio de tubérculos colhidos/planta			
	Tratamentos — (Tubérculos)			
	1 Inteiro	2 Ponta	3 Base	4 Lateral
2.º Campinas — 1942/43 (Prelim.)	2,1	2,6	4,1	—
3.º „ — 1943/44 „	1,9	1,0	0,9	0,8
4.º Tietê — 1943/44 „	4,4	2,8	5,3	—
Médias dos ensaios preliminares	2,80	2,13	3,43	—
5.º Campinas — 1944/45 (Defin.)	1,5	1,9	2,3	2,7
6.º „ — 1945/46 „	2,4	2,0	3,0	1,9
Médias dos ensaios definitivos	1,95	1,95	2,65	2,30

(*) Não constam, neste quadro, os dados referentes ao 1.º Ensaio, por não haver sido contados os "stands" no mesmo.

Comparando as médias dêsses dados, obtidos nos ensaios preliminares e definitivos, para cada tratamento, observa-se que o tratamento 3, "base", foi o que produziu maior número de tubérculos por planta. Êste fato é o motivo de ter êste tratamento produzido tubérculos com menores pesos médios (Ver quadros 5 e 7), pois, não variando a produção bruta, quanto maior o número de tubérculos formados por planta, tanto menor será o tamanho dêles, e menor, portanto, o seu pêso médio.

CONCLUSÕES GERAIS

Nestas séries de ensaios, cuja finalidade foi verificar o comportamento dos tubérculos de cará cortados, em comparação com os tubérculos inteiros, de mesmo pêso, podemos concluir que êstes se mostraram superiores àqueles na produção. As diferenças foram pouco significativas. O comportamento dos tubérculos cortados pode mesmo ser considerado bom, principalmente quando se faz o corte transversalmente.

Quando não se dispõe, para a área a plantar, de suficiente quantidade de tubérculos miúdos (60 a 150 gr), que constituem tipo impróprio para o mercado e preferível para plantio, por serem mais baratos, pode-se empregar tubérculos maiores, cortados transversalmente ao meio, a fim de permitir o plantio de maiores áreas.

RESUMO

Relatamos os resultados obtidos em seis experiências, nas quais foi estudado o comportamento dos tubérculos de cará, comparados com sementes cortadas transversal e longitudinalmente. Os resultados de maior interêsse foram os seguintes :

a) o "stand", ou percentagem de germinação, dos diferentes tipos de tubérculos usados, foi bom e pràticamente igual em todos os tratamentos. Apenas o "lateral", correspondente aos tubérculos cortados longitudinalmente, mostrou-se inferior, por apresentar maiores percentagens de falhas ;

b) as produções brutas mais elevadas foram obtidas com os tubérculos inteiros. Dentre os tratamentos correspondentes a tubérculos cortados, deram maiores produções os obtidos pelo corte transversal. Essas diferenças de produção entre os tratamentos, embora sensíveis, não foram significativas, à luz da análise estatística. Para conseguirmos dados mais precisos sôbre êste ponto, os ensaios serão, por isso, repetidos nos anos seguintes, com o plano definitivo ;

c) quanto ao pêso médio ou tamanho dos tubérculos colhidos, observou-se que foi bem menor nos tratamentos plantados com a base. Entre os demais tratamentos : "inteiro", "ponta" e "lateral", não houve, pràticamente, diferenças apreciáveis. Observou-se, também, que, de um modo geral, os tubérculos colhidos foram tanto menores quanto mais tardiamente foram os ensaios plantados ;

d) no tratamento plantado com a "base" dos tubérculos foi maior o número médio de tubérculos produzidos por planta. Isso explica o fato de êsse tratamento ter produzido tubérculos de menor tamanho.

SUMMARY

Experiments with true yam (*Dioscorea alata* L.) were conducted at Campinas and Tietê districts, State of São Paulo, in order to study the relative value of the apical, basal and lateral sets of tuber of fair size as compared to whole seed tubers of equal size with the purpose of investigating the possible saving of marketable tubers.

Stand percentage and yield were good, beeing practically the same, both for whole seed tubers and their apical and basal sets. Lateral sets gave poor stand and yield.

Plants originated from basal sets yielded a lower average for tuber weight. On the other hand these same plants produced a larger number of tubers. This accounts for the lower tuber weight.

Finally the use of both apical and basal sets of tubers of fair size may be recommended for yam crop, if little tubers are scarce. This fact results into a greater saving in seeds.

LITERATURA CITADA

1. **Anônimo.** Physiological, storage, and propagation studies with yams. *Em* Relatório da Est. Exp. de Mayaguez (Pôrto Rico) **1937** : 42–56. 1938.

2. **Jumelle, H.** *Em* Les plantes à tubercules alimentaires, pg. I-VIII + 1–372, O. Doin et Fils, Paris, 1910.

3. **Pais de Camargo, A.** Cará. *Em* Relatório da Secção de Raízes e Tubérculos do Inst. Agronômico do Estado de S. Paulo **1943** : 201–210 (não publicado).

4. **Pais de Camargo, A.** Cará. *Em* Relatório da Secção de Raízes e Tubérculos do Inst. Agronômico do Estado de S. Paulo **1944** : 177–184 (não publicado).

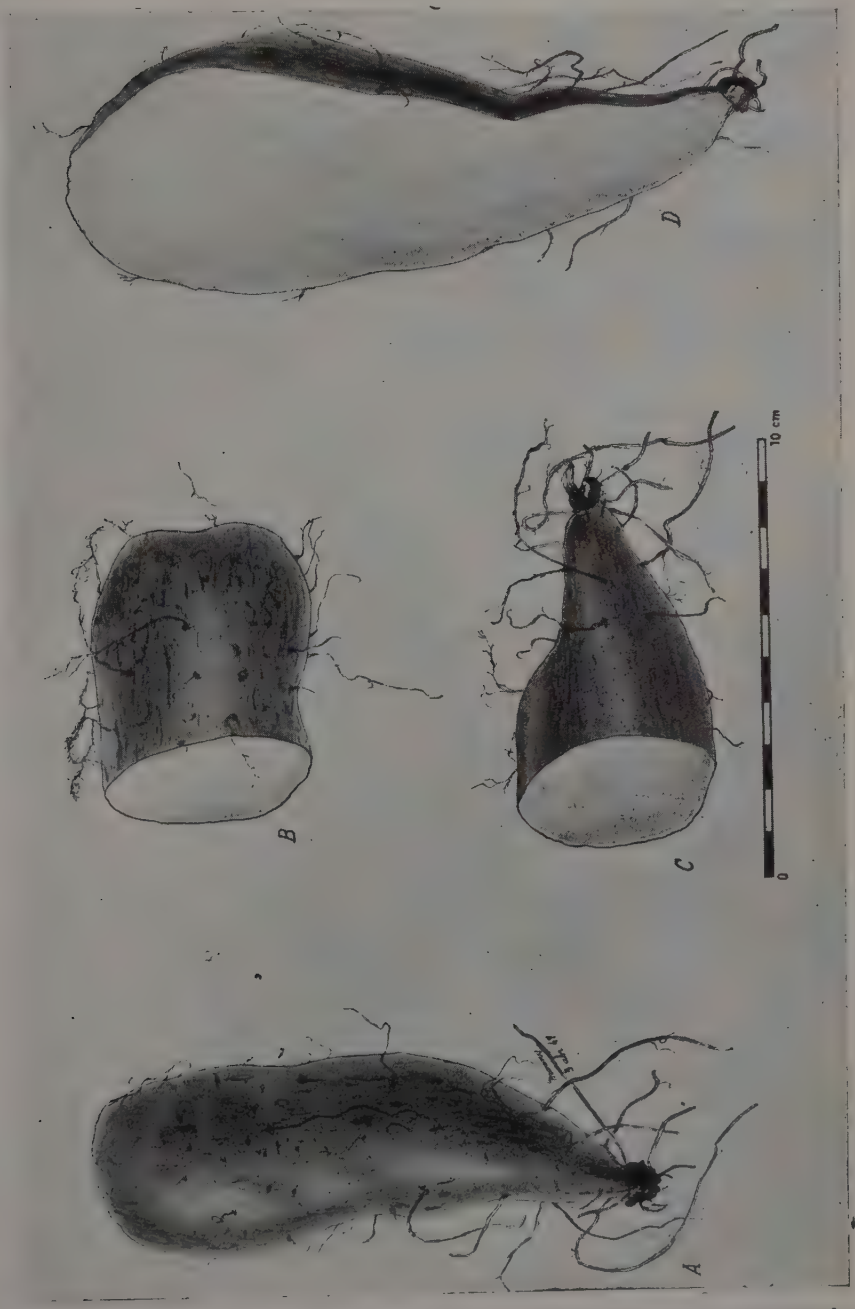
5. **Pais de Camargo, A.** Cará. *Em* Relatório da Secção de Raízes e Tubérculos do Inst. Agronômico do Estado de S. Paulo **1945** : 187–194 (não publicado).

6. **Pais de Camargo, A.** Cará. *Em* Relatório da Secção de Raízes e Tubérculos do Inst. Agronômico do Estado de S. Paulo **1946** : 209–216 (não publicado).

7. **Pais de Camargo, A.** e **O. J. Boock.** Influência do tamanho do tubérculo-semente na produção do cará. Bragantia **4** : 627–640. 1944.

8. **Snedecor, George W.** *Em* Statistical methods, pg. 1–477, The Collegiate Press, Ames, Iowa, 1946.

Est. 1



Dioscorea alata L. (cará). Tubérculo e parte de tubérculo usados no plantio dos ensaios definitivos de corte. A — Tubérculo inteiro ; B — metade apical ; C — metade basal ; D — metade lateral.

Est. 2

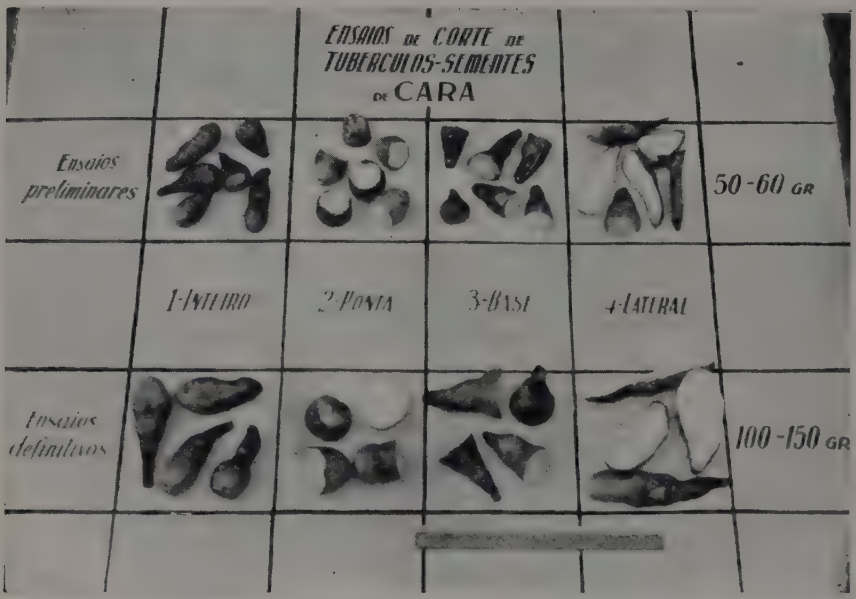


FIGURA a — Tubérculos, dos diferentes tratamentos, plantados nos ensaios preliminares e definitivos.

FIGURA b — Vista geral do 3.º Ensaio, 1944. Campinas. 1 — Canteiros plantados com tubérculos inteiros ; 2 — idem, com as pontas dos tubérculos ; 3 — idem, com as bases ; 4 — idem, com as metades laterais.

POLIEMBRIONIA EM CITRUS

Sílvio Moreira
J. T. A. Gurgel (*) e
Lineu F. de Arruda (**)

INTRODUÇÃO

De um projeto geral de melhoramento de *Citrus*, organizado em 1938, para cujo planejamento e execução colaboraram as secções de Citricultura, Genética, Citologia e Estação Experimental de Limeira, do Instituto Agronômico, assim como a secção de Citologia e Genética da E. S. A. "Luiz de Queiroz", constava o estudo detalhado de vários caracteres das espécies e variedades cítricas existentes na coleção da Estação Experimental acima referida. Dentre êsses caracteres, dada a sua importância para os trabalhos projetados, à poliembrionia foi dedicada especial atenção, tendo mesmo sido iniciada a sua determinação dois anos antes (1936), em sementeira da variedade azêda (*Citrus aurantium* L.). (***)

De então para cá, tais determinações foram intensificadas e hoje possuimos numerosos dados que reunidos, analisados e comparados, permitem esclarecer pontos ainda obscuros e incertos ou também confirmar aquêles já estabelecidos por outros pesquisadores. Alguns dêsses dados já foram utilizados para explicar certas constatações mencionadas em trabalhos publicados por vários colaboradores do referido plano de melhoramento de *Citrus* (Brieger (3, 5), Bacchi (1), Krug (12), Moreira (13, 15) e Gurgel (9). Tais dados são agora reunidos e novamente publicados, sob forma diferente, em conjunto com outros ainda inéditos.

Desde os memoráveis trabalhos de Strasburger (18), a poliembrionia em *Citrus* se tornou um fenômeno bem conhecido, tendo sido posteriormente determinada e estudada por numerosos investigadores. Podem ser mencionadas as pesquisas de Webber (27, 28 e 29), Frost (6), Toxopeus (23), Swingle (19), Torres (21, 22), Traub (24), Hatton (10), Hodgson (11), Osawa (17) e muitos outros, que relatam observações e sugerem hipóteses em relação às causas e variações encontradas na manifestação dêste fenômeno.

Não sendo nossa intenção entrar em uma discussão muito ampla da literatura sôbre poliembrionia, e mesmo no que diz respeito à questão mais restrita da poliembrionia em *Citrus*, podemos citar o ótimo resumo publicado em "Citrus Industry" (8).

(*) Livre-Docente e assistente da Cadeira de Citologia e Genética da E. S. A. "Luiz de Queiroz" em Piracicaba.
(**) Agrônomo Regional de Limeira.
(***) Seguimos a classificação adotada por Swingle (20).

Parece-nos comprovado que a poliembrionia nos *Citrus* é, de um modo geral, devida ao crescimento de células nucelares, situadas à superfície do saco embrionário. Iniciando-se por crescimentos irregulares, elas penetram no interior do saco embrionário, adquirindo, finalmente, a forma esférica, com um pequeno pedúnculo, típico para a formação de embriões normais. Êste processo já foi descrito por Strasburger (**18**), e verificado por observações de muitos autores.

As observações microscópicas feitas desde o início da formação dos embriões nucelares, deixam claramente ver que são grupos irregulares de células que iniciam o seu crescimento na direção centrípeta, à superfície do saco embrionário ; assim, não se pode dizer se cada grupo de células iniciais já corresponde a um só embrião nucelar ou se há ainda divisões secundárias. Também parece que não há uma absoluta limitação a uma ou outra região pré-determinada do saco embrionário, apesar de que se nos afigure que existe intensidade mais acentuada nas regiões do nucelo adjacente à parte micropilar, onde está localizada a oosfera.

O desenvolvimento dos embriões nucelares também não parece sincronizado e o fato de aparecerem, em sementes maduras, embriões grandes e pequenos, pode em parte ser explicado pela maior ou menor precocidade do seu desenvolvimento. Assim, não há, evidentemente, qualquer limitação rígida de ordem histológica com referência ao número de embriões nucelares. De outro lado, devendo conter cada saco embrionário uma só oosfera, era de se esperar, no máximo, um embrião sexual por semente (**15**, fig. 15 e 16), porém foram observados vários casos com mais de um embrião sexual por semente (**6**, **7**, **24**). Registamos tal caso num cruzamento de Calamondin x Trifoliata, no qual, num total de 3 « seedlings », um era Calamondin puro, indicando origem apogâmica, e os dois outros, providos de fôlhas tripartidas, de natureza sexual. É interessante observar que êstes híbridos, quando novos, pela conformação das fôlhas, não eram idênticos, e não podemos afirmar se se trata de ações fenotípicas, genéticas, ou, ainda, consequência de uma aberração citológica, porquanto posteriormente os caracteres foliares dêstes híbridos tornaram-se idênticos.

Há duas explicações para o aparecimento de dois embriões sexuais : Frost (**6**, **7**) opinou tratar-se de uma clivagem do embrião, de modo que os dois descendentes representam gêmeos uni-ovais ; Bacchi (**1**), de outro lado, observou, em cortes, a ocurrência rara de dois sacos embrionários no mesmo óvulo, o que daria origem a dois embriões bi-ovais.

A variabilidade do número de embriões foi já observada por muitos autores e parece que os fatôres responsáveis por essa variação são muito diversos, além da constituição genética das variedades ou espécies. Traub (**24**), por exemplo, registou correlação entre poliembrionia e alimentação, devendo-se admitir a influência do meio sôbre a manifestação dêsse fenômeno. Discutindo as relações entre polinização e poliembrionia, Frost (**8**) manifesta dúvidas de que a fecundação seja um pré-requisito para a embrionia nucelar. De outro lado, não pode haver dúvida, de acôrdo com as investigações de vários autores citados por Frost (**8**), de que o número de sementes formadas está em relação com a polinização efetuada. Moreira e Gurgel (**15**)

observaram que há diferença significante no número de sementes em laranja Baianinha, quando fecundada com pólen das variedades Barão ou Hamlin.

Na análise experimental da poliembrionia encontramos indicações de uma competição entre o único embrião sexual e os numerosos embriões nucelares. Isto já foi constatado pelo método direto de observação microscópica (histológica) por Strasburger (18). Segundo Frost (8) e Toxopeus (23), os embriões sexuais, são menos vigorosos do que os embriões apogâmicos. Assim, não é de se admirar que a natureza do pai, em cruzamento, tenha uma influência diferente nesta competição, pois é de se esperar que algum híbrido seja mais, ou menos, vigoroso (Toxopeus (23), Tôrres (21), Frost (6).

O fim principal do presente trabalho é a determinação da distribuição e frequência da poliembrionia nas diferentes espécies e variedades da nossa coleção, para depois escolher o material mais favorável aos estudos detalhados sôbre alguns dos problemas acima mencionados. Parece-nos, ainda, que estudos mais minuciosos sôbre poliembrionia poderiam ter uma aplicação prática, tanto na obtenção de novas variedades por cruzamento, como no problema do estabelecimento de clones para cavalo, opinião, aliás, já manifestada por Toxopeus (23).

MÉTODOS APLICADOS

As observações por meio de dois diferentes processos de contagem de poliembrionia, são justificadas pela finalidade que tínhamos em vista. Pareceu-nos interessante, do ponto de vista geral, saber exatamente o número de embriões perfeitos ou imperfeitos, que podiam se formar. Para qualquer fim prático, era apenas de interêsse saber o número de embriões suficientemente desenvolvidos, que podem passar da fase embrional para a vida independente, isto é, formar "seedlings".

Dois métodos foram por nós usados para proceder às determinações do número de embriões encontrados nas sementes das plantas cítricas : 1) contagem de embriões germinados ; 2) contagem de embriões nas sementes antes de iniciado o processo de germinação ou, como chamamos, processo direto.

1. Contagem de embriões germinados

Os quadros 1 e 2 mostram, em resumo, os dados obtidos por êste método, os quais, do ponto de vista prático, são bastante interessantes, porque indicam frequências "realmente" obtidas na germinação das sementes.

Vejamos como foram feitas essas determinações.

a) **Dados do quadro 1.** Colhemos, separadamente, frutos normais em 15 árvores de laranja azêda (*Citrus aurantium* L.). Extraimos as sementes, que foram lavadas e imediatamente semeadas em canteiros de terra. Fizemos a semeação em sulcos rasos (2 cm) cobrindo as sementes com leve camada de terriço.

QUADRO 1

POLIEMBRIONIA EM CITRUS

Contagem em sementeira de laranja azêda — 1936

(Fecundação livre)

N.º de Árvores	EM 15.000 SEMENTES GERMINADAS						
	Frequência de embriões				Embriões		Poliembrionia %
	1	2	3	4	Total	$\bar{v}$	
15	14.020	935	42	3	16.028	—	—
Média	934,6	62,3	2,8	0,2	1.069	1,1	6,5

Quando a germinação já estava bem adiantada, arrancamos cuidadosamente as sementes com embriões germinados, mas ainda reunidos sob a resistente película externa (texta), de maneira a não haver dúvida quanto à origem dos embriões encontrados. A maior parte das sementes assim arrancadas já possuia pelo menos um embrião com as duas pequenas fôlhas completamente formadas. Rasgando a película já em início de desagregação, contamos todos os embriões encontrados no seu interior e que demonstravam comêço de germinação (formação de radícula e caulículo). A esta contagem escapavam naturalmente aquêles embriões minúsculos, que normalmente nunca germinam em sementeira comum.

De cada planta semeamos cêrca de 5.000 sementes, de modo que tivemos material abundante para escolher mil sementes nas condições acima referidas, desprezando as mal germinadas e aquelas cuja película exterior já se havia decomposto. Foram assim contados os embriões, cuja frequência variou de 1 a 4, em 15.000 sementes. Não fizemos determinação da proporção de germinação nesta sementeira.

b) **Dados do quadro 2.** Fizemos a sementeira em caixas com terra, distribuindo as sementes em linhas e conservando uma distância de 2 cm de uma a outra. Anotamos o número de sementes plantadas, o qual regulou ser 500 de cada planta. Pudemos determinar a percentagem de germinação por ocasião de proceder à contagem dos embriões.

Foram plantadas, individualmente separadas, sementes de 110 plantas pertencentes a 62 variedades e 9 diferentes espécies cítricas, assim como de 10 plantas representando 4 tipos de híbridos.

O arrancamento e a contagem dos embriões foram procedidos do mesmo modo descrito em **a**, depois de terminada a germinação, isto é, 80 dias após a semeação (**16**).

QUADRO 2

POLIEMBRIONIA EM *CITRUS*

( )ntagem em sementeira — 1938

(Fecundação livre)

ESPÉCIE OU HÍBRIDO	N.º de árvores	Sementes		Frequência média de embriões (por planta e por classe)							Embriões por sementes	Poliembrionia
		Plantadas	Germinadas %	1	2	3	4	5	6	7	$\bar{v}$	%
C. hystrix (papeda)	1	500	26,8	134	—	—	—	—	—	—	1,0	0,0
C. grandis (toranjas)	5	2200	71,1	30,5	0,2	—	—	—	—	—	1,0	0,06
C. aurantium (laranja azêda)	30	14750	41,2	196,6	5,0	0,1	—	—	—	—	1,0	2,6
C. aurantifolia (limas)	11	5410	24,4	110,2	10,9	0,1	—	—	—	—	1,1	9,0
C. reticulata (tangerinas)	1	500	37,6	156	30	2	—	—	—	—	1,2	17,0
C. reticulata ? (limão cravo)	3	1500	68,4	315	27	—	—	—	—	—	1,1	7,9
C. limon (limões)	14	6860	41,3	170,7	30,4	3,2	0,4	0,07	—	—	1,1	13,1
C. sinensis (laranja doce)	40	16690	45,6	149,5	48,7	6,2	0,9	0,1	—	—	1,3	26,4
C. paradisi (pomelos)	4	2000	71,7	234,2	115,5	8,2	0,5	—	—	—	1,4	34,4
C. médica (cidras)	1	500	30,0	149	1	—	—	—	—	—	1,0	0,6
C. reticulata x *Fortunella* sp. (calamondin)	3	1500	72,1	168,3	139,3	42,6	8,3	0,6	0,3	0,3	1,6	53,1
Poncirus trifoliata x *C. sinensis* (citrange Rusk)	1	500	34,6	104	53	12	4	—	—	—	1,5	39,9
C. reticulata x *C. paradisi* (tangelos)	2	1000	57,5	214,5	62,5	8,5	2,0	—	—	—	1,2	23,2
C. sinensis x *C. reticulata* (tangors)	4	1550	21,2	66,5	14,5	1,0	—	—	—	—	1,2	17,2

2. Contagem direta na semente

Na literatura sôbre poliembrionia encontramos referências sôbre contagem direta do número de embriões nas sementes dos *Citrus*. Em vista disso, tentamos fazer essa determinação também no material da nossa coleção.

QUADRO 3

POLIEMBRIONIA EM CITRUS

Contagem dos embriões nas sementes, sem germiná-las (fecundação livre)

ESPÉCIE OU HÍBRIDO	N.º de árvores	Número de		DISTRIBUIÇÃO DA FREQUÊNCIA DE EMBRIÕES (média por árvore em cada classe)															Embriões por sementes	Poliembrionia
		Sementes	Embriões	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	20	$\bar{v}$	%
C. hystrix (papeda)	2	268	268	134,0																1,0	0,0
C. grandis (toranjas)	7	2.082	2.085	297,4	0,1	0,2														1,0	0,4
C. aurantium (laranja azêda)	3	541	810	116,3	45,0	14,3	3,6	0,3	0,3	0,3										1,6	51,5
C. aurantifolia (limas)	7	621	1.042	43,5	33,0	9,7	2,7	0,4												1,6	46,1
C. reticulata ? (limão cravo)	8	1.264	2.150	78,8	53,6	20,3	4,1	1,0												1,7	49,6
C. limon (limões)	10	2.066	2.903	156,8	27,8	13,4	6,0	1,5	0,8	0,3										1,7	39,9
C. sinensis (laranja doce)	15	2.536	7.069	45,0	45,1	34,0	17,6	12,6	7,4	4,4	1,7	0,4	0,2	0,2	0,06			0,06		2,5	69,5
C. paradisi (pomelo Mac-Carty)	1	418	978	110	161	82	40	14	8	2	1									2,3	73,2
C. reticulata x *Fortunella* sp (calamondin)	vários	500	1.793	84	105	107	58	64	37	17	11	3	3	4	4		2		1	3,6	83,2
C. sinensis x *C. reticulata* (tangor)	2	255	823	15,5	33,0	31,0	23,0	13,5	7,0	1,5	2,0	1,0								3,2	86,8
Poncirus trifoliata	vários	562	1.709	82	280	195	67	25	6	5	1		1							2,6	87,6
C. paradisi ? (pomelo ?)	E.E. 3	324	326	322	2															1,0	0,6
	E.E. 8	334	339	329	5															1,0	1,5
	E.E. 7	311	1.553	2	24	64	62	52	44	26	14	6	8	6	1	1			1	5,0	99,4

Há várias vantagens na determinação da poliembrionia diretamente na semente, bastando lembrar que podemos contar um número bem maior de embriões, do que na sementeira, obtendo-se assim um resultado mais exato, com grande economia de tempo e, principalmente, de espaço.

A técnica usada é muito simples : com uma agulha histológica abre-se o integumento na ponta da semente. Com uma pinça de pontas finas, vai-se retirando o integumento bem como a película que recobre os embriões. A disseção dos embriões é feita com duas agulhas histológicas ; a princípio, enquanto não se tem ainda prática, deve ser feita sob a lupa binocular ; após bastante tirocínio, pode-se fazer à vista desarmada, com exceção apenas das sementes altamente poliembriônicas, como a do Calamondin, laranja lima, etc., em que se encontram embriões pequenos, medindo, às vêzes, menos de milímetro. Na disseção dos embriões das sementes deve-se tomar muito cuidado para não quebrar os cotilédones, retirando sempre que possível os embriões completos. Nas espécies com alta frequência de poliembrionia deve-se abrir os cotilédones dos embriões maiores, pois é comum encontrar-se embriões pequenos crescendo por dentro dos grandes ; além disso, deve-se ainda observar muito bem os embriões do lado que foi o micrópilo, pois é também comum encontrar-se embriões diminutos até menores de 0,5 mm, por cima e entre os embriões maiores.

Outra dificuldade que ainda se pode encontrar na identificação dos embriões é a variação do número de cotilédones, pois aparecem embriões com 1, 3 e 4 cotilédones, além dos normais, com 2.

No quadro 3 damos o resumo, por espécie cítrica, dos dados obtidos na contagem direta dos embriões nas sementes.

RESULTADO DAS CONTAGENS DA POLIEMBRIONIA

Em tôdas as formas de *Citrus* estudadas, a poliembrionia foi demonstrada de dois modos : **número médio** ou média dos embriões, que se obtém dividindo-se o número total de embriões contados pelo número de sementes consideradas ; e a **percentagem** de poliembrionia, que se obtém calculando-se em porcento a frequência das sementes com dois ou mais embriões, no total das sementes contadas. Por exemplo, se tivermos só sementes monoembriônicas, a média dos embriões será 1 e a percentagem será zero ; se tivermos apenas sementes de 2 ou mais embriões, a média dos embriões será, no mínimo, 2, e a percentagem será 100. Os casos mais comuns são os compreendidos entre êsses limites, sendo bom frizar que encontramos mais frequentemente sementes monoembriônicas, ao passo que sementes com 100% de poliembrionia é fato raramente verificado.

Para facilitar a discussão sôbre os resultados obtidos nas contagens da poliembrionia, quer utilizando-se a contagem dos embriões no processo da germinação, quer no processo direto, achamos conveniente recorrer ao agrupamento das percentagens de poliembrionia em três classes, estabelecendo-se o critério seguinte :

POLIEMBRIONIA	Processo de contagem	
	Na sementeira	Direto
baixa	0%—15%	0%—30%
média	15%—30%	30%—60%
alta	+30%	+60%

1. Contagem de embriões germinados

a) Dados do quadro 1 — Laranja azêda (*Citrus aurantium* L.).

A contagem da poliembrionia da laranja azêda foi feita em mais de 15.000 sementes, pelo interêsse que esta variedade já teve e pode ainda voltar a ter como porta-enxêrto. Do nosso plano de trabalhos em colaboração constava a obtenção de clones desta variedade, utilizando-se do fenômeno da poliembrionia ; para isso projetamos polinizar as melhores matrizes de laranja azêda com *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., cujo caráter "trifólio" é dominante sôbre o tipo de fôlha comum, o que permitiria distinguir na sementeira os embriões sexuais dos apogâmicos. Depois do aparecimento da "tristeza" dos *Citrus*, êstes estudos foram interrompidos, por estar essa variedade, pelo menos temporàriamente, condenada como cavalo para várias espécies cítricas (14).

A percentagem da poliembrionia variou de 4,3 até 8,6 ; as diferenças dos extremos para a média das 15 árvores estudadas são estatìsticamente significantes, o que prova ser possível separar plantas com diferentes graus de poliembrionia. Contudo, essas diferenças, apesar de significantes, não apresentam interêsse prático, por serem de ordem muito baixa e sofrerem variações de um ano para outro, como veremos mais adiante.

A poliembrionia na laranja azêda, verificada pelo processo da germinação da semente, é baixa. Obtiveram-se em 15.000 sementes contadas, 93,5% ou 14.020 sementes com um só embrião germinado. A percentagem de poliembrionia foi de 6,5. Entre as poliembriônicas estão incluídas 935 sementes com dois; 42 de três, e 3 com quatro embriões cada uma.

b) Dados do quadro 2 — *Citrus* diversos e híbridos.

Incluimos na determinação da poliembrionia, os resultados expressos pelo número médio de embriões e pela percentagem ; foram contadas sementes de 9 diferentes espécies de *Citrus*, num total de 110 plantas, e 4 diferentes híbridos, não só de espécies do gênero *Citrus*, como também dêste gênero com *Fortunella* e *Poncirus*, num total de 10 plantas

Papeda (*Citrus hystrix* DC.). Esta foi a única espécie cujas sementes mostraram ser sempre monoembriônicas na contagem em sementeira. Nas 135 sementes germinadas, provenientes de uma única planta, encontramos sempre um só embrião.

Toranjas (*Citrus grandis* (L.) Osbeck). As variedades pertencentes a esta espécie têm sido consideradas, por muitos autores, como monoembriônicas, mas, nas nossas determinações, encontramos uma planta de toranja doce que, dentre 338 sementes germinadas, apresentou uma com 2 embriões. Como veremos posteriormente, fazendo a contagem dos embriões diretamente na semente, encontramos em sementes de algumas plantas embriões adicionais; os quais, sendo muito pequenos, raramente conseguem germinar. Para fins práticos, podemos considerar as toranjas como sendo monoembriônicas.

Laranja azêda (*Citrus aurantium* L.). Além dos dados constantes do quadro 1, na nova determinação da poliembrionia empreendida em 1938 incluimos também esta espécie, sendo anotada a poliembrionia em sementes de 30 plantas, localizadas em 3 diferentes pomares. Encontramos desde plantas monoembriônicas, até plantas com mais de 15% de poliembrionia (agro-doce), sendo a percentagem média da poliembrionia de 2,6%. Devido à poliembrionia ser muito baixa na grande maioria das plantas, a média do número de embriões por semente ficou muito próxima de 1.

Comparando êstes resultados com os do quadro 1, notamos que êles são muito baixos, podendo-se atribuir êste fato ao número menor de sementes contadas, geralmente menos de 250 por planta ; a única exceção verificada é a de duas plantas que, na verdade, não devem ser comparadas, pois são representantes de outra variedade, a agro-doce, provàvelmente um híbrido (*Citrus aurantium* x *Citrus sinensis*). (24).

Limas doces e ácidas (*Citrus aurantifolia* Christm. Swing). Foram analisadas 11 plantas de 4 diferentes origens, variando a poliembrionia de 2,9%, na lima selvagem, até 13,8%, na lima da Pérsia. Neste grupo, a poliembrionia foi baixa, sendo a percentagem média de 9,0%. O número médio de embriões está próximo de 1 ; sòmente duas plantas (lima da Pérsia e limão Cristal) apresentavam sementes de três embriões.

Limão cravo (*Citrus reticulata* ?). Sementes de 3 plantas apenas foram examinadas, encontrando-se baixa e constante percentagem de poliembrionia, ao redor de 8,0%. O número médio de embriões por semente (1,1) também foi constante. Por haver uma certa dúvida quanto à posição botânica desta forma de *Citrus*, pensando-se, às vêzes, tratar-se de uma tangerina ácida (**20**, p. 415) ou de um híbrido (lima x tangerina) preferiu Webber (**28**, p. 480, 548, 619, 626) manter o limão cravo no grupo das limas. De acôrdo com os dados do quadro 2, sob o ponto de vista da poliembrionia, esta forma cítrica aproxima-se muito mais da espécie *Citrus aurantifolia* do que da *Citrus reticulata* Blanco.

Mexiriqueira do Rio (*Citrus reticulata* Blanco). Contamos os embriões de sementes de uma única planta desta espécie, encontrando-se 17,0% de poliembrionia. A média foi de 1,2 embriões por semente ; o máximo observado foi de 3 embriões em 2 sementes.

Limões em geral (*Citrus limon* L. Burm.). Foram analisadas 14 plantas correspondentes a 10 variedades de duas diferentes localidades,

encontrando-se desde limões monoembriônicos, como o Ponderosa e Sweet Lemon, até limões com 32,0 a 53,2% de poliembrionia, respectivamente, Rugoso e Rio Claro ; a poliembrionia para esta espécie foi em média de 13,1%, o número médio de embriões variou de 1 a 1,7 com um valor médio de 1,1.

Laranja (ou tangor), tangerina, maracujá, sabará e reticulata (*Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*). Foram analisadas 4 diferentes plantas e variedades, tôdas da Estação Experimental de Limeira. A poliembrionia foi baixa, variando de 7,7% para laranja tangerina até 25,8% para a laranja reticulata, sendo a média de 17,2%. Apenas em dois casos obtivemos sementes com mais de 3 embriões (sabará e reticulata) ; o número médio de embriões variou de 1,1 até 1,3 com um valor médio de 1,2.

Laranjas doces (*Citrus sinensis* L. Osbeck). Foram analisadas 40 plantas, de 4 diferentes pomares, indo a poliembrionia desde 7,2% até 52,3%, sendo a média de 26,4% ; as médias de embriões variaram de 1,1 até 1,7 com um valor médio de 1,3.

Como vemos, nas laranjas doces encontramos representantes desde poliembrionia alta, como as laranjas macaé, mangaratiba, seleta amarela e S. Sebastião, com mais de 40% e sementes até com 5 embriões ; poliembrionia média, como nas laranjas caipira B, abacaxi, coronel, sanguínea, etc., entre 15 e 30% e sementes até com 4 embriões ; finalmente, poliembrionia baixa, com menos de 15%, nas laranjas Setubal, açoriana, etc.

Pomelos (*Citrus paradisi* Macf). Neste grupo foram analisadas 4 plantas, cada uma de diferente variedade, tôdas de um só pomar. A poliembrionia oscilou entre média a alta, com valores de 26% para os pomelos triunfo e marsh-seedless, até cêrca de 42% para os pomelos Foster e McCarty ; os dois tipos com poliembrionia alta chegaram a ter sementes até com 4 embriões, e os 2 restantes até 3 embriões por semente. A média de poliembrionia para êste grupo foi de 34,4% e o número médio de embriões por semente de 1,4.

Calamondin (*Citrus reticulata* var. *austera*? x *Fortunela* sp?). Êste híbrido apresenta o mais alto grau de poliembrionia, variando as plantas de 47,4% até 56,0%, com uma média de 53,1% ; portanto, o número de sementes poliembriônicas é maior do que as monoembriônicas. Encontramos em uma planta sementes até com 7 embriões, o que, de fato, é um número bastante alto ; nas outras 2 plantas, obtivemos sementes até com 5 embriões. Portanto, dentre tôdas as formas de *Citrus*, nas quais foi determinada a poliembrionia na germinação da semente, o Calamondin ocupa a mais alta posição, com um recorde de 7 embriões, numa única semente.

Cidra (*C. medica* L.). A única planta analisada deu, em 150 sementes germinadas, apenas 1 com 2 embriões, o que dá 0,6% de poliembrionia ; aqui também, pràticamente, podemos considerar a poliembrionia como nula.

Citrange Rusk (*C. sinensis* x *P. trifoliata*). Na única planta analisada dêste híbrido, constatamos um grau poliembriônico alto, cêrca de 40%, encontrando-se sementes até com 4 embriões.

Tangelos (*C. reticulata* x *C. paradisi*). Nos dois tangelos analisados, a poliembrionia foi de grau médio, com valores de 15% e 31%, sendo a média de 23,2% ; o tangelo Thornton teve sementes até com 4 embriões, ao passo que o Sampson ? teve sementes até com 3 embriões. Os números médios de embriões, por semente, foram 1,1 e 1,4, com valor médio de 1,2.

2. Contagem direta na semente

Dados do quadro 3 — *Citrus* diversos, híbridos e *Poncirus*.

Papeda (*C. hystrix*). À semelhança do que aconteceu na determinação da poliembrionia pelo processo da germinação, também na contagem direta não encontramos qualquer semente poliembriônica, mesmo examinando-se plantas de duas origens diferentes, devendo-se considerar bastante provável que esta espécie seja de fato monoembriônica.

Toranjas (*C. grandis*). Como já vimos, esta espécie tem sido tomada como monoembriônica. Nas nossas contagens baseadas no processo direto e de germinação, observamos plantas com sementes apresentando embriões adicionais. Assim, para as toranjas vermelhas, encontramos, no ano de 1943, duas sementes com 3 embriões e, em 1944, uma semente com 2 embriões. As demais eram plantas monoembriônicas.

Fica comprovado que, embora na maioria dos casos as sementes das toranjas sejam monoembriônicas, pode aparecer algumas sementes com um ou dois embriões adicionais. Nada podemos afirmar quanto à origem dêstes. Parece-nos provável tratar-se de embriões sexuais.

Laranja azêda (*C. aurantium*). Foram analisadas 3 plantas : uma de laranja azêda e duas de agro-doce, tôdas da coleção da Estação Experimental de Limeira. Na primeira, a poliembrionia foi de 54,0% e nas outras duas de 36,0% e 64,7%, o que dá uma média de 51,5%. Para as mesmas plantas, o número médio de embriões variou de 1,3 a 2,1, com um valor médio de 1,6.

Na determinação direta, o grupo da laranja azêda apresentou alta percentagem de poliembrionia, e uma planta de agro-doce chegou mesmo a ter até 65,0% e sementes até com 7 embriões. No processo da contagem em sementeira, poucos embriões conseguem germinar. Dão percentagem muito baixa, como vimos no quadro 2.

Lima da Pérsia (*C. aurantifolia*). Foram analisadas sementes de 4 plantas, tôdas da Estação Experimental de Limeira. Esta espécie se mostrou mais homogênea que as demais, com valores de poliembrionia desde 32,1% até 63,8% e média de 46,1%. O número médio de embriões variou de 1,4 até 2,0, com um valor médio de 1,6.

De acôrdo com êstes resultados, a lima da Pérsia exibe grau médio de poliembrionia, podendo-se dizer que metade das suas sementes é monoembriônica e outra metade tem uma variação de 2 a 5 embriões por semente.

Limão cravo (*C. reticulata*?). Foram analisadas plantas de duas origens diferentes, da Estação Experimental de Limeira e Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". As percentagens de poliembrionia são muito variáveis, obtendo-se desde 10,3% até 88,9%, sendo a média de 49,6%. O número médio de embriões variou de 1,2 até 2,4 com um valor médio de 1,7.

Pelos dados acima, podemos dizer que no limão cravo a poliembrionia varia de baixa até alta, sendo que metade das sementes é monoembriônica e metade com 2 até 5 embriões por semente. Novamente, esta variedade apresenta as percentagens e frequências médias semelhantes às da espécie *C. aurantifolia.*

Limões em geral (*C. limon*). Dentro desta espécie encontramos, no mínimo, 2 grupos diferentes: um com grau baixo de poliembrionia, como nos limões doce, ponderosa e sweet lemon; outro com grau alto de poliembrionia, constituído pelo limão rugoso. Nas formas de baixa poliembrionia encontramos valores desde 3,0% para o limão ponderosa até 21,0% para o limão doce; na forma de alta poliembrionia, desde 80,5% até 90,0%, sempre em limão rugoso, provàvelmente um híbrido (*C. limon* x *C. medica*), segundo Webber (**28,** p. 607). A média dos dois grupos não tem valor muito representativo, aproximando-se de 40% de poliembrionia.

Nestes grupos, o número de embriões, por semente, foi também muito variável, de 2 até 7; a média variou de 1,0 a 1,3 nas formas de baixa poliembrionia e de 2,4 a 2,8 no limão rugoso.

Laranja (tangor), maracujá (*C. reticulata* x *C. sinensis*). Foram analisadas duas plantas da Estação Experimental de Limeira. Os valores de poliembrionia, bastante próximos um do outro, foram de 82,0% e 91,6%; o número médio de embriões foi de 3,2 e 3,3, respectivamente. A média de poliembrionia dêste híbrido foi de 86,8%. As sementes apresentavam até 9 embriões e podemos dizer que elas têm um alto grau de poliembrionia.

Laranjas doces (*C. sinensis*). Foram analisadas mais de 15 plantas pertencentes a 7 variedades, tôdas da coleção da Estação Experimental de Limeira. A poliembrionia variou de 30,8% para laranja açoriana até 95,0% para a laranja lima, sendo a média de 69,5%; o número médio de embriões, por semente, para as mesmas plantas, variou de 1,4 até 4,0 com um valor médio de 2,5.

Dêste modo, nas laranjas doces, encontramos plantas com poliembrionia de grau médio até alto; nas primeiras, os valores de poliembrionia vão até 60,0%, tendo sementes, no máximo, com 6 embriões; e nas segundas, até 95%, com um recorde de 15 embriões numa única semente.

Pomelos (*C. paradisi*). Nas várias plantas examinadas, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", obtivemos alta poliembrionia, com valor de 73,2%, sendo o número médio de embriões de 2,3. As plantas examinadas mostraram poliembrionia bastante uniforme.

Calamondin (*C. reticulata* var. *austera*? x *Fortunela* sp?). Êste foi o híbrido que deu maior percentagem de poliembrionia no processo de contagem dos embriões germinados. Confirmamos êste fato, no processo

de contagem direta, pois constatamos sementes até com 20 embriões. É notável que encontramos várias sementes com 10 até 14 embriões e também que o número de sementes com 3 embriões foi muito maior do que com 2 embriões. A percentagem de poliembrionia foi de 83,6% e o número médio de embriões 3,6.

Trifoliata (*Poncirus trifoliata*). Esta espécie apresentou alto grau de poliembrionia, chegando a 87,6%, e sementes encerrando até 10 embriões; o número médio de embriões foi de 2,6. Sendo a variação da poliembrionia entre as plantas muito pequena, reunimos tôdas as determinações em um único valor.

Pomelo?. Como teremos ocasião de discutir mais adiante, as plantas dêste grupo, na Estação Experimental de Limeira, devem ter tido origem bem diferente, pois, para duas plantas, encontramos poliembrionia muito baixa, de 0,6% e 1,6%, respectivamente ; de outro lado, para uma planta, encontramos a mais alta poliembrionia até hoje registada, de 99,4%. Uma de suas sementes encerrava o notável número de 20 embriões ; o número médio de embriões, por semente, desta planta, foi de 5, havendo apenas 2 sementes com 1 só embrião.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Como se vê pelos quadros 2 e 3, a avaliação da poliembrionia em *Citrus*, pela germinação da semente ou pela contagem direta, revelou grande diferença. Por êste último processo, a frequência foi bem maior que no primeiro. A razão dessa diferença é que, no processo direto, se contam todos os embriões existentes na semente, e, como já frizamos anteriormente, muitos dêles são bem pequenos, medindo até menos de um milímetro. Por ocasião da germinação, êles ou não estão ainda completamente formados e não conseguem vencer a concorrência dos demais, ou estão mal localizados, às vêzes dentro dos cotilédones dos embriões maiores, e dessa forma não conseguem também germinar.

É interessante notar que nas diversas formas de *Citrus*, utilizando-se os dois processos de contagem, encontram-se diferenças muito acentuadas na poliembrionia. Para os limões, esta diferença foi de 30%, para a laranja azêda de 50% e para o tangor maracujá de 70%.

Para facilitar as comparações dos resultados obtidos nos dois processos citados, organizamos o quadro 4, no qual damos os valores médios para as diferentes espécies de *Citrus*, híbridos e gêneros correlatos. Como podemos notar alí, a única espécie totalmente monoembriônica foi a papeda (*C. hystrix*) ; nas toranjas, consideradas monoembriônicas, encontramos, em alguns indivíduos, fraca poliembrionia. A laranja azêda deu, na germinação, poliembrionia muito baixa, cêrca de 2,6% e na contagem direta, poliembrionia média 51,5%, sendo a diferença de 48,9% ; a variação de poliembrionia, tanto em um como no outro processo de contagem, foi da mesma ordem. A lima da Pérsia, o limão cravo e os limões (*C. limon*) que apresentaram no processo da germinação 9,0, 10,3 e 13,1%, deram, respectiva-

QUADRO 4

POLIEMBRIONIA EM *CITRUS*

Comparação entre contagens na sementeira e direta. Variação. (Fecundação livre)

Citrus diversos híbridos e *Poncirus*		CONTAGEM DE EMBRIÕES				Diferença da poliembrionia %	Extremos da variação da percentagem de poliembrionia	
		Na sementeira		Direta				
Nome vulgar	Nome científico	Embriões $\bar{v}$	Poliembrionia %	Embriões $\bar{v}$	Poliembrionia %		Sementeira	Direta
Papeda	*C. hystrix*	1,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0– 0,0	0,0– 0,0
Toranja	*C. grandis*	1,0	0,1	1,0	0,4	0,3	0,0– 0,3	0,0– 1,7
Laranja azêda	*C. aurantium*	1,0	2,6	1,6	51,5	48,9	0,0–18,9	36,0–54,0
Lima da Pérsia	*C. aurantifolia*	1,1	9,0	1,6	46,1	36,1	2,9–13,8	32,1–63,8
Limão cravo (Rangpur)	*C. reticulata* ?	1,1	10,1	1,7	49,6	39,5	7,4–17,0	10,3–88,9
Limões { doce, ponderosa, rugoso, Sweet Lemon	*C. limon*	1,1	13,1	1,7	39,9	26,8	0,0–53,2	3,0–90,0
Laranja maracujá	*C. sinensis* x *C. reticulata*	1,2	17,2	3,2	86,8	69,6	7,7–25,8	82,0–91,0
Laranja doce	*C. sinensis*	1,3	26,4	2,5	69,5	43,1	7,2–52,3	30,8–95,0
Pomelo	*C. paradisi*	1,4	34,4	2,3	73,2	38,8	25,6–44,6	73,2
Calamondin	*C. reticulata* x *Fortunela*	1,6	53,1	3,6	83,2	30,1	47,4–56,0	83,2
Trifoliata	*Poncirus trifoliata*	—	—	2,6	87,6	—	—	87,6
Pomelo (?)	*C. paradisi* (?)	— —	— —	5,0 1,0	99,4 1,1	— —	— —	99,4 1,1

mente, na contagem direta, 46,1, 49,6 e 39,9%, sendo a diferença entre os dois processos de 40%, aproximadamente ; estas 3 espécies de *Citrus* apresentaram grande variação de poliembrionia, como podemos notar nas últimas colunas do quadro 4. Muito contribuiu para isso, a inclusão, neste grupo, do limão rugoso, que deve ser considerado como híbrido e tem alta poliembrionia.

O tangor maracujá, deu, na sementeira, um valor muito baixo de poliembrionia, 17,2%, ao passo que na contagem direta foi bem alto, chegando a 86,8% com uma diferença de 70% ; a variação da poliembrionia dentro de cada processo foi pequena.

Nas laranjas doces e pomelos, as diferenças da poliembrionia avaliadas pelos dois processos foram quase iguais, cêrca de 40% ; as médias das contagens na sementeira foram, respectivamente, de 26,4% e 34,4% e na contagem direta dos embriões de 69,5% e 73,2%. Considerando-se a variação da poliembrionia dentro de cada processo, podemos notar que na laranja doce a variação foi bem grande e nos pomelos foi bem menor.

No calamondin, a diferença entre os dois processos de contagem foi de 30% ; a variação da contagem em sementeira foi bem pequena.

Em sementes de trifoliata e de pomelo (?) fez-se sòmente a contagem pelo processo direto, o que impossibilitou uma comparação.

Uma vez que se tem contagens de poliembrionia em algumas plantas individualmente pelos dois processos, isto é, da sementeira e direta, pode-se fazer mais algumas comparações (quadro 5), pois, naturalmente, aqui os resultados são mais exatos do que quando se usam as médias das espécies. Para resumir estas comparações, vamos discutir os casos mais interessantes, podendo-se, nos demais, consultar o quadro 5.

Podemos notar que o sweet lemon (E. E. 4), considerado monoembriônico, segundo a contagem em sementeira germinada, revelou poliembrionia de 6-7% em contagem direta. Embora baixa, não permite classificá-lo como variedade monoembriônica. Depois do sweet lemon, encontramos as menores diferenças da poliembrionia, entre os dois processos, nas laranjas caipiras (E. E. 4 e E. E. 3), da ordem de 25% ; as maiores diferenças apareceram na laranja azêda (E. E. 3), (53, 3%) e no limão cravo (E. E. 3 e E. E. 4), 55 e 74%.

Já podíamos, até certo ponto, prever êstes resultados, porque sweet lemon, laranja azêda e limão cravo têm geralmente, um embrião muito forte e os demais bem pequenos. Êstes últimos quase nunca conseguem germinar. Na estampa 3, fig. a podemos fàcilmente observar êsse fato em sementes de laranja azêda.

De outro lado, nas plantas em que a diferença entre os dois processos de contar a poliembrionia não é grande, como nas laranjas caipira, açoriana e seleta amarela, verifica-se que os embriões não são muito diferentes entre si. Mostram-se todos igualmente bem desenvolvidos, e, portanto, com melhores possibilidades de germinar.

QUADRO 5

POLIEMBRIONIA EM *CITRUS*

Comparação entre contagens na sementeira e direta

(Fecundação livre)

CITRUS DIVERSOS	N.º da árvore	CONTAGEM DE EMBRIÕES				Diferença da Poliembrionia %
		Na sementeira		Direta		
		Embriões $\bar{v}$	Poliembrionia %	Embriões $\bar{v}$	Poliembrionia %	
Sweet Lemon.....	(E.E. 4)	1,0	0,0	1,1	6,7	5,6
Laranja azêda	(E.E. 3)	1,0	0,7	1,3	54,0	53,3
Laranja agro-doce	(E.E. 4)	1,2	18,9	2,1	64,7	45,6
Lima da Pérsia	(E.E. 3)	1,1	7,3	1,7	57,1	49,8
	(E.E. 4)	1,1	13,8	1,6	44,9	31,1
Limão Cravo	(E.E. 3)	1,1	7,4	1,8	62,4	55,0
	(E.E. 4)	1,1	8,0	2,1	82,0	74,0
Laranja açoriana	(E.E. 5)	1,1	10,0	1,6	46,2	36,2
Laranja lisa paulista ..	(E.E. 4)	1,3	20,9	2,2	67,6	46,7
Laranja caipira B.	(E.E. 4)	1,3	25,0	1,8	47,1	22,1
Laranja caipira B.	(E.E. 3)	1,3	27,3	1,7	54,0	26,7
Laranja seleta amarela	(E.E. 3)	1,5	43,6	2,8	79,4	35,8

QUADRO 6

POLIEMBRIONIA EM *CITRUS*

Distribuição das frequências em contagens na sementeira e direta

POLIEMBRIONIA	FREQUÊNCIA	
Classes em %	Sementeira	Direta
100 — 90	0	7
90 — 80	0	8
80 — 70	0	6
70 — 60	0	5
60 — 50	4	4
50 — 40	9	4
40 — 30	6	6
30 — 20	23	2
20 — 10	25	2
10 — 0	38	9
0	15	7
Total	120	60

Para mostrar como se deu a distribuição da frequência dos valores de poliembrionia nos dois processos, organizamos o quadro 6, no qual podemos notar o seguinte: na contagem, em sementes germinadas, encontramos 15 plantas na classe 0% de poliembrionia; na classe de 0 a 10% encontramos a frequência máxima de 38 plantas; logo a seguir, notamos que a frequência vai diminuindo, terminando na classe de 50 a 60%. De outro lado, da coluna do processo direto de contagem dos embriões, notamos distribuição mais ou menos uniforme de frequência nas 11 classes de 0 a 100%, havendo um ligeiro acúmulo nas classes de 0%, de 0% — 10%, de 30-40%, de 80-90% e 90-100%. Por êste processo, conseguimos contar número bem maior de embriões do que pelo processo da germinação. A contagem direta fornece informação precisa sôbre o grau de poliembrionia. Pelo processo de germinação encontramos, no máximo, 66%, quando pela contagem direta chegamos até quase 100% de poliembrionia.

COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS COM OS DE OUTROS AUTORES

1. Contagem em sementeira.

Comparando os resultados discutidos no capítulo precedente com os obtidos por outros investigadores verifica-se que o número médio de embriões germinados, por semente, em diversas espécies cítricas não é excessivamente variável. No quadro 7 resumimos os dados publicados por Navarro de Andrade (16), Torres (22), Frost (8), Toxopeus (23) e os constantes dos quadros 1 e 2, todos referentes a contagens em sementeira.

QUADRO 7

POLIEMBRIONIA EM *CITRUS*

Número médio de embriões germinados por semente, segundo vários autores, comparado com os dados dos quadros 1 e 2.

ESPÉCIES	Navarro (16)	Tôrres (22)	Frost (8)	Toxopeus (23)	Quadros 1 e 2
Toranjas	—	1,0	1,1	—	1,0
Laranja azéda .	1,3	1,2	—	—	1,1
Limas	1,1	1,0	—	—	1,1
Limão cravo	1,1	—	—	—	1,1
Mandarinas	—	1,3	1,2	1,5	1,2
Limões	—	1,0	1,0	1,1	1,1
Limão rugoso ...	1,2	1,9	—	1,7	1,2
Laranjas doces ..	1,4	2,0	1,3	—	1,3
Pomelos	1,3	1,1	1,2	—	1,4

Os dados de Navarro e de Frost aproximam-se bastante dos nossos ; Tôrres encontrou frequência de embriões bem mais elevada no limão rugoso e nas laranjas doces ; o mesmo acontece com os dados de Toxopeus em relação às mandarinas e ao limão rugoso.

Como veremos no capítulo seguinte, a viabilidade dos embriões está condicionada às condições de meio que lhes sejam proporcionadas, especialmente nas formas de alta poliembrionia. As diferenças mencionadas podem ser explicadas como resultantes de melhores ou piores condições para germinação a que foram submetidas as sementes.

2. Contagem direta.

Dados referentes à contagem direta são mais raros. Só foi possível comparar os nossos com os mencionados por Tôrres (22) e Toxopeus (23). Os dados dêste último são de 4 formas cítricas apenas, como se vê pelo quadro 8 :

QUADRO 8

POLIEMBRIONIA EM *CITRUS*

Número médio de embriões por semente (contagem direta) segundo vários autores

ESPÉCIES	Tôrres (22)	Toxopeus (23)	Quadro 3
C. hystrix	1,0	—	1,0
C. grandis	1,0	—	1,0
C. aurantium	1,0	—	1,6
C. aurantifolia	1,0	2,0	1,6
C. reticulata	1,8	6,1	1,7(*)
C. limon	1,3	—	1,1
C. hybrida (?) — (limão rugoso)	2,0	4,5	2,6
C. sinensis	2,6	—	2,5
C. paradisi	1,6	—	2,3
C. reticulata x *Fortunella*	5,3	8,9	3,6

(*) Limão cravo ou "rangpur lime".

Verifica-se pelos dados das colunas 2 e 4, relativa concordância de nossos dados com os obtidos por Tôrres. Frequências bem maiores foram

encontradas por Toxopeus, mostrando a existência de acentuada variação da poliembrionia dentro de uma mesma espécie, quando se consideram todos os embriões formados nas sementes, isto é, em contagem direta.

ASPECTOS QUALITATIVOS DA POLIEMBRIONIA

1. Distribuição e caraterísticas dos embriões.

De acôrdo com o que vimos na introdução dêste trabalho, os embriões adventícios se formam de células do nucelo, situadas nas circunvizinhanças do saco embrionário, as quais crescem para dentro dêste ; há, ainda, uma certa tendência das células próximas ao micrópilo, de formar mais embriões. Devido a isto encontramos na região que corresponde ao micrópilo, isto é, ápice da semente, um número maior de embriões, como bem mostram as figs. **a** e **b** da estampa 3 e estampa 5.

Os embriões se distribuem na semente com o caulículo e a radícula voltados para o micrópilo. Embriões com os cotilédones voltados para o micrópilo, ou, ainda, situados no meio da semente, são raros. Pudemos notar que é nas sementes altamente poliembriônicas que se encontram mais frequentemente as exceções à regra acima mencionada. Para melhor ilustração disto, damos desenhos de embriões de laranja azêda e calamondin (estampa 3, figs. **a** e **b**), nas quais bem se pode notar a posição, tamanho e distribuição dos embriões e, também, o tamanho dos cotilédones. Êsses desenhos representam 3 etapas : a) ao serem retirados o tegumento e a película da semente, mostrando como os embriões se justapõem ; b) os embriões afastados, mas mantendo a sua posição relativa na semente ; c) embriões abertos, mostrando a posição e tamanho dos cotilédones.

Outro fato interessante que constatamos ao analisarmos a distribuição da frequência da poliembrionia (capítulo seguinte) foi a deficiência de sementes na classe de 4 embriões, comprovada pela análise estatística. Observamos que quando há 4 embriões, êles tendem a se justapor em forma de cruz, dentro da semente. Talvez isto cause alguma dificuldade de ordem mecânica que determine a não formação do 4.° embrião.

Quanto à côr, verificamos que na maior parte dos embriões de *Citrus*, predomina a côr branca. Há casos, como no limão cravo, sweet lemon, laranja maracujá e calamondin em que quase todos os embriões são verdes ; encontramos ainda casos em que apenas os embriões pequenos são verdes, como em laranja azêda, limão ponderosa e pomelo Mac Carty.

2. Tamanho dos embriões e dos cotilédones.

Como já acentuamos, por várias vêzes, os embriões são muito variáveis em tamanho. Seus cotilédones podem ser iguais ou diferentes.

Uma vez que os embriões das diversas formas de *Citrus* têm tamanhos diferentes, resolvemos, para estudar êste caráter, separá-los em três tamanhos : grandes, médios e pequenos ; na classe dos pequenos, que para tôdas as formas é menor de 5 mm, podemos distinguir ainda embriões diminutos, menores de 2 mm.

As sementes monoembriônicas ou de poliembrionia muito baixa têm um embrião muito desenvolvido e de cotilédones iguais como na papeda, toranjas e laranjas azêda e agro-doce. À medida que a poliembrionia aumenta, como na lima da Pérsia, limões cravo, doce, ponderosa e sweet lemon, a percentagem dos embriões grandes decresce, passando de 100% a 60%. Por outro lado, aumenta a dos embriões médios, enquanto a percentagem dos embriões pequenos mostra-se baixa, menos de 10%. Nas formas de alta poliembrionia, como na laranja maracujá até o trifoliata, a percentagem de embriões grandes é idêntica ou menor que a dos embriões médios, geralmente de 20 a 40%, havendo um acréscimo notável na classe dos embriões pequenos, que passam a cêrca de 40%. À medida que a poliembrionia cresce, aumenta a variabilidade dos cotilédones.

Uma boa ilustração do que acabamos de expor, isto é, da variabilidade do tamanho dos embriões e dos cotilédones encontra-se nas estampas 3, (figs. **a** e **b**), 4 e 5. Na figura **a**, estampa 3, damos o desenho de 3 sementes de laranja azêda, das quais foram retirados o tegumento e a película, expondo os embriões. Na primeira semente temos 2 embriões grandes, um dêles com os 2 cotilédones iguais e o outro com um cotilédone grande e um pequeno. Na 2.ª semente, um dos embriões mede a metade do outro, tendo os cotilédones mais ou menos iguais. Na 3.ª semente, um dos embriões é bem pequeno, com ambos os cotilédones também mais ou menos iguais. A laranja azêda tinha 82% de embriões grandes, 10% de embriões médios e 8% de embriões pequenos.

Na figura **b**, estampa 3 (desenho de sementes altamente poliembriônicas de calamondin), podemos notar que na primeira semente há um grande número de embriões médios, com cotilédones não muito diferentes. Na segunda e terceira sementes da mesma figura podemos ver alguns embriões com cotilédones bem diferentes. O calamondin tinha 18% de embriões grandes, 43% de embriões médios e 39% de embriões pequenos ; nos tipos de embriões grandes e médios há ainda que notar a variação do tamanho dos cotilédones.

Outras particularidades se encontram ainda nos embriões dos *Citrus*, como sejam : cotilédones colados, número diferente de cotilédones, etc.

3. Germinação dos embriões dissecados.

Por várias vêzes fizemos a semeadura de embriões dissecados, em caixas com terra bem preparada, e em todos os casos em que os embriões eram grandes e médios (acima de 5 mm) obtivemos boa germinação. Cumpre notar que há formas de *Citrus* que têm os embriões adicionais ainda meio gelatinosos, como na laranja lima, pomelo Mac Carty e lima da Pérsia. Neste caso, êles não germinam.

Como tínhamos interêsse em que se desenvolvesse o maior número possível de embriões, tentamos o cultivo em tubos de ensaio em meio asséptico-com solução nutritiva (solução de Sachs) e pH corrigido para 5. Conseguiu, se obter germinação de embriões até de 2 mm (os embriões foram prèviamente desinfestados em solução de Uspulum a 1,25 ‰, durante 5 minutos).

Os tubos de ensaio foram mantidos em plena luz e ao fim de 5 dias já se notava que os embriões grandes e médios (de 13 a 15 mm) estavam emitindo raízes ; os embriões pequenos de 5 a 2 mm demoraram mais ou menos 20 dias para emitir a radícula. Para se formar o primeiro par de fôlhas, foram necessários de 20 a 25 dias para os embriões grandes e médios, e 1 mês para os embriões pequenos. Êstes experimentos foram realizados nos meses de março e abril de 1943, com temperaturas variando de 20 a 30°C.

Não conseguimos obter germinação dos embriões muito pequenos, menores de 2 mm. Talvez, usando outros meios de cultura com sacarose, hormônios ou vitaminas, se consiga que êles também germinem, à semelhança do que acontece com outras plantas.

4. **Julgamento do grau de poliembrionia pelo aspecto da semente**

Desde que iniciámos a determinação da poliembrionia na semente, chamou-nos a atenção, nas formas altamente poliembriônicas, a grande variação de conformação que as sementes apresentavam, dentro de uma mesma amostra. Assim, encontramos sementes com muitas anfratuosidades, sementes lisas ou quase lisas, passando ainda por tipos intermediários. Pareceu-nos que essas variações estavam relacionadas com o número de embriões encerrados nas sementes.

Afim de verificar se uma separação (pelo aspecto das sementes) em classes correspondia a diferenças no grau de poliembrionia, escolhemos duas formas altamente poliembriônicas, calamondin e o trifoliata. Num lote de sementes, fizemos a separação em 3 tipos : corrugado, meio liso e liso, aos quais atribuimos, respectivamente, o caráter de alta, média e baixa poliembrionia. Os resultados dessa contagem, bem como a determinação direta da poliembrionia, constam do quadro 9.

QUADRO 9

POLIEMBRIONIA EM *CITRUS*

Comparação entre aspecto externo das sementes e número de embriões

Tipo de poliembrionia	CALAMONDIN					TRIFOLIATA				
	Sementes separadas		Poliembrionia			Sementes separadas		Poliembrionia		
	n.º	%	Sementes contadas	n.º de embriões	$\overline{V}$	n.º	%	Sementes contadas	n.º de embriões	$\overline{V}$
Alta ..	118	32%	100	512	5,12	72	12%	43	148	3,47
Média .	243	46%	100	361	3,61	429	71%	50	124	2,28
Baixa .	168	22%	100	189	1,89	102	17%	63	103	1,63
Total .	529	100%	300	1.062	3,54	603	100%	156	662	2,41

A seguir, fizemos um teste estatístico para ver se as médias de cada classe eram ou não significantemente diferentes entre si: aplicamos o δ-teste para diferenças de médias, porque temos uma distribuição binomial e descontínua, definida pela fórmula:

$$\delta = \frac{\bar{v}_1 - \bar{v}_2}{\sigma_{\bar{v}\ \text{dif.}}} = \frac{\bar{v}_1 - \bar{v}_2}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}} \qquad \begin{matrix} nf_1 = 1 \\ nf_2 = \infty \end{matrix}$$

Os resultados dessa comparação seguem:

CLASSES COMPARADAS	Calamondin	Trifoliata
	δ	δ
Alta com média	+ 4,45	+ 4,30
Baixa com média	— 8,56	— 5,07

Como vemos, os δ são todos muito significantes, bem fora do limite de 1% de probabilidade. Em virtude disso, concluimos que as classes separadas pelo aspecto exterior da semente são de fato diferentes. Por outras palavras, que há correlação entre aspecto da semente e grau de poliembrionia. Pode-se muito bem notar isso nas estampas 4 e 5.

Poderíamos estender essa análise para outras formas de *Citrus*. Mas os exemplos dados são patentes. Lembremo-nos de que essas conclusões se aplicam às formas com alta ou média poliembrionia, pois, naquelas com baixa poliembrionia, essa distinção não se torna mais possível.

ANÁLISE DA VARIABILIDADE DA POLIEMBRIONIA

Os estudos sôbre a variação do número de embriões por semente mostraram desde logo que tôdas as comparações teriam que ser feitas, tomando-se como base a variação ideal de acaso da "distribuição de Poisson". Esta distribuição, já conhecida desde há muito, tem sido utilizada na estatística. Um resumo dos seus principais testes e o modo de os aplicar foi publicado por Gurgel (9).

Por definição, devemos esperar uma variação segundo a distribuição de Poisson, quando temos: a) uma série descontínua, na qual os valores das classes só podem ser números inteiros e positivos; b) a primeira classe

teórica com o valor zero e em consequência disto, a pressão do limite zero se manifesta, tornando-se a distribuição assimétrica ; c) a frequência dos acontecimentos esperados tão pequena em relação ao número total de acontecimentos possíveis, que a frequência observada é pràticamente independente do número total de observações.

Evidentemente, êsses requisitos são satisfeitos para a variação do número de embriões em *Citrus*. A variação é sempre de embriões inteiros, dentro de um número teòricamente ilimitado de embriões. O fato de não existir semente sem embrião parece oferecer uma objeção, mas esta falta aparente da classe zero se explica se considerarmos o seguinte : na poliembrionia, como aliás o nome está dizendo, estamos interessados no número de embriões adicionais que a semente contém além do normal e não no número total de embriões. Assim, nas nossas tabelas, entram as duas seguintes indicações : sementes com um embrião, isto é, sem embrião adicional (classe zero) ; sementes com dois embriões, isto é, com um embrião adicional (classe um), etc. Igualmente podemos exprimir a média por dois modos : média de número de embriões por semente ou média de embriões adicionais, que é igual à média anterior menos um. A distinção entre embrião básico, indispensável, e embriões adicionais, tem que ser feita, para satisfazer às exigências da análise estatística, porém esta distinção não deve ser interpretada em têrmos biológicos. Pode acontecer que todos os embriões sejam assexuais e, portanto, biològicamente iguais ; ou que um embrião pelo menos, seja sexual e todos os restantes, apogâmicos ; ou, ainda, que todos os embriões sejam sexuais (estampas : 3, figs. **a** e **b** ; 4 e 5).

São conhecidas observações que servem para comprovar a asserção acima : em 6 cruzamentos feitos com tangerina Dancy, Frost (**8**) obteve 100% de embriões apogâmicos ; em cruzamentos efetuados, entre calamondin x trifoliata, observamos (**5**), que apenas 2,47% das plantas provenientes de 90 sementes, provinham de embrião sexual, caraterizado pela dominância da fôlha tripartida do segundo ; em cruzamento de toranja x trifoliata, obtivemos (**5**) 100% de plantas com embrião sexual.

Na análise estatística aplicamos dois processos : a) a comparação da distribuição inteira, fazendo um χ^2 teste das frequências observadas por classe, com as frequências teóricas da série de Poisson, tendo ambas a mesma média e idêntica soma de frequências ; b) comparação pelo teste, do êrro "standard" da distribuição observada com o êrro "standard" de uma série ideal correspondente, sendo êste último igual à raiz quadrada da média. Êste segundo processo se baseia no princípio de Lexis e foi introduzido na análise estatística por Brieger (**4**).

Neste último teste, esperávamos, de início, que os erros "standard" observados fôssem sempre maiores do que os erros ideais correspondentes, indicando assim uma variação excessiva ; verificando, porém, como mais adiante explicaremos, que os erros observados eram menores do que os erros ideais, resolvemos aplicar para o θ teste os limites bilaterais de probabilidade, recentemente desenvolvidos por Brieger (**2**).

1. Variação entre frutos de uma mesma planta e na mesma colheita

Para verificarmos a variação fenotípica da poliembrionia nas sementes de diferentes frutos colhidos simultâneamente e de uma mesma planta, foram contados separadamente os embriões de 10 frutos de pomelo Mac Carty e do trifoliata, constando os resultados dos quadros 10 e 11.

Discutiremos em primeiro lugar os valores referentes ao pomelo Mac Carty (quadro 10). O teste "entre-dentro" para a média dos 10 frutos é altamente significativo, com θ igual a 3,43, o qual está fora do limite de 1 ‰ de probabilidade. Os desvios relativos dos frutos em relação à média geral dão 4 valores fora do limite de 1 ‰ de probabilidade, sendo 3 valores negativos e 1 positivo (14.ª coluna do quadro 10). As médias dos embriões adicionais por fruto (12.ª coluna) formam uma série contínua, indo desde 0.52 até 2,22 embriões por semente. A variação por fruto é homogênea, como mostra o θ teste da última coluna do quadro ; comparando os erros "standard", observados e ideais, e aplicando os limites bilaterais de probabilidade de θ, achamos dentro dêsses valores apenas um valor um pouco fora do limite de 5% de probabilidade (valor achado de θ igual a 0,78 e valor calculado por interpolação da tábua de Brieger (2) de 0,77 com **nf1** igual a 37 e **nf2** igual ao infinito). Ainda mais, o θ entre o "êrro dentro" (1,12) e o êrro ideal (1,16), dá também um valor não significativo, comprovando desta forma que tôda a variação é do acaso.

A análise para o trifoliata (quadro 11) dá o mesmo resultado que pomelo Mac Carty, com referência à comparação das médias ; a variação entre as médias, dada pelo θ entre os erros "entre" e "dentro", é 2,33 maior do que o êrro residual. Os valores das médias formam também uma série contínua, indo de 1,17 até 2,49 embriões adicionais por fruto. Os erros individuais por fruto, porém, são com uma exceção única, menores do que o êrro ideal, aparecendo 3 valores menores do que o limite de 1 ‰ de probabilidade, 2 valores menores do que o limite de 1% e 2 valores entre os limites de 1% e 5% de probabilidade. O êrro dentro (1,07) é também estatìsticamente menor do que o êrro ideal correspondente, dando um valor de θ igual a 0,84 que está fora do limite de 1 ‰ de probabilidade. Assim, fica claro que no trifoliata há uma variação sistemàticamente diminuída.

2. Variação entre sementes de uma mesma planta e na mesma colheita

Para êste estudo foi determinada a poliembrionia em um número bastante grande de sementes obtidas de frutos misturados, colhidos na mesma época, de uma única planta (pomelo Mac Carty, laranja lisa paulista e limão francês) ou de diversas plantas (calamondin, trifoliata e laranja lima).

Pelo exposto nos capítulos anteriores, vemos que para as três primeiras formas de *Citrus* foi eliminada a variação que podia ser causada pela diferença da época de colheita e aquela entre diferentes árvores. A variação realmente observada pode ser atribuída : a) variação entre diferentes frutos ;

QUADRO 10

POLIEMBRIONIA EM CITRUS

Variação da poliembrionia entre frutos de pomelo Mc Carty

(Fecundação livre)

N.º de ordem	N.º de embriões por classe								Número de		$\bar{v}i$	σi	$\delta = \frac{\bar{v}i - \bar{\bar{v}}i}{\sigma\,\bar{v}i}$	$\vartheta = \frac{\sigma}{\sigma i}$
	1	2	3	4	5	6	7	8	Sementes	Embriões				
1	20	9	4						33	50	0,52	± 0,72	— 6,54	0,97
2	21	17	4	2					44	75	0,70	± 0,84	— 5,05	0,96
3	15	22	3	2					42	76	0,81	± 0,90	— 3,82	0,84
4	15	21	11	2					49	98	1,00	± 1,00	(— 2,38)	0,83
5	10	13	7	2	1	1			34	76	1,24	± 1,11	— 0,53	1,07
6	9	24	8	5	0	1	1		48	114	1,38	± 1,17		1,04
7	4	20	8	5	1				38	93	1,45	± 1,20		0,78
8	7	13	11	2	2	1	1		37	97	1,62	± 1,27	+ 1,34	1,09
9	4	10	12	11	5	2			44	141	2,20	± 1,14	+ 3,04	0,90
10	5	12	14	9	5	3	0	1	49	158	2,22	± 1,49	+ 4,13	1,01
Soma	110	161	82	40	14	8	2	1	418	978	1,34	± 1,16	—	0,97

$\sigma\,T = \pm 1{,}24$ $\qquad$ $\sigma\,E = \pm 3{,}84$ $\qquad$ $\sigma\,D = \pm 1{,}12$

$\vartheta = \frac{\sigma\,T}{\sigma\,i} = \frac{1{,}24}{1{,}16} = 1{,}07$ $\qquad$ $\frac{nf1 = 417}{nf2 = \infty}$ $\qquad$ $\vartheta = \frac{\sigma\,E}{\sigma\,D} = \underline{3{,}43}$ $\qquad$ $\frac{nf1 = 9}{nf2 = 408}$

QUADRO 11

POLIEMBRIONIA EM CITRUS

Variação da poliembrionia entre frutos de poncirus trifoliata

(Fecundação livre)

N.º de ordem	N.º de embriões por classe								Número de		$\bar{v}i$	σi	$\delta = \frac{\bar{v}i - \bar{\bar{v}i}}{\sigma\, \bar{v}i}$	$\vartheta = \frac{\sigma}{\sigma i}$
	1	2	3	4	5	6	7	8	Sementes	Embriões				
1	9	36	8	4	1				58	126	1,17	± 1,08	— 3,24	0,77
2	8	25	10	4	1				48	109	1,27	± 1,13	(— 2,21)	(0,80)
3	2	24	14	1					41	96	1,34	± 1,16	— 1,60	0,53
4	3	24	17	3	1				48	119	1,48	± 1,22		0,65
5	3	16	14	2	1				36	90	1,50	± 1,22		0,68
6	6	18	15	6	1				46	116	1,52	± 1,23		(0,77)
7	7	14	10	4	4				39	101	1,59	± 1,26		0,94
8	1	20	12	9	1				43	118	1,74	± 1,32		0,67
9	3	17	13	3	2	1	0	1	40	112	1,80	± 1,34		1,00
10	1	13	9	2	3	1	1		30	90	2,00	± 1,41	+ 1,44	0,96
11	1	11	14	7	3	2			48	120	2,16	± 1,47	(+ 2,22)	0,80
12	2	9	14	6	2	2	4		39	136	2,49	± 1,58	+ 3,40	1,03
Soma	46	227	150	51	20	6	5	1	506	1333	1,63	± 1,28	—	0,84

$\sigma\, T = \pm 1{,}12$ $\qquad$ $\sigma\, E = \pm 2{,}49$ $\qquad$ $\sigma\, D = \pm 1{,}07$

$$\vartheta = \frac{\sigma E}{\sigma D} = 2{,}33 \qquad \frac{nf1 = 11}{nf2 = 494}$$

$$\vartheta = \frac{\sigma T}{\sigma i} = \frac{1{,}12}{1{,}28} = 0{,}88 \qquad \frac{nf1 = 505}{nf2 = \infty}$$

b) variação inevitável ou residual da poliembrionia. Separando estas duas últimas fontes de variação verificamos, no caso do pomelo Mac Carty e do trifoliata (quadros 10 e 11), uma diferença de variação muito grande : no pomelo Mac Carty as variações "entre" e "dentro" frutos são do acaso ; no trifoliata sòmente a variação "entre" frutos é do acaso, havendo uma significante e sistemàticamente diminuída variação "dentro" frutos. "Confundindo" estas duas fontes de variação obtivemos resultados bem diferentes. O êrro total para o pomelo Mac Carty é um pouco maior do que o êrro ideal da série de Poisson, sendo o θ justamente fora do limite de 5% de probabilidade ; em trifoliata, ao contrário, prevalece a redução da variabilidade, sendo o êrro total significantemente menor do que o êrro ideal.

Para estudarmos a variação da poliembrionia entre as sementes de pomelo Mac Carty, laranja lisa paulista e limão cravo ou francês, fizemos um χ^2 teste entre as frequências observadas do número de embriões em cada classe, isto é, zero, um, dois, etc., embriões adicionais, e as frequências esperadas pela distribuição de Poisson (**9**). Sabemos que para o χ^2 teste ser eficiente, a frequência esperada para as classes extremas tem que ser igual ou maior do que cinco ; como em geral o número de sementes por fruto não é grande, temos que juntar as sementes de diversos frutos, mesmo sabendo que com isso introduzimos mais uma fonte de variação, isto é, a variação entre diferentes frutos.

Verificamos que para o pomelo Mac Carty, laranja lisa paulista e limão cravo, cujos frutos são de uma só planta, os χ^2 totais entre as frequências observadas e esperadas das classes com diferentes graus de poliembrionia são todos não significativos, isto é, abaixo do limite de 5% de probabilidade. Portanto, nestes três *Citrus*, a variação da poliembrionia segue a distribuição de Poisson.

Examinando com mais detalhe os χ^2 individuais de cada distribuição, notamos que apenas para o pomelo Mac Carty o χ^2 da última classe é significativo (7,09), aparecendo um número mais elevado de sementes com alta poliembrionia (classes com 5 ou mais embriões adicionais), do que o esperado pela série de Poisson. Esta anormalidade é devida principalmente às sementes de um único fruto (número 10), como se pode notar nos dados do quadro 10.

Passando ao estudo da poliembrionia em calamondin, trifoliata e laranja lima, devemos lembrar que temos aqui "confundidas" três fontes de variação : a) entre plantas diferentes, b) entre frutos, c) residual. Assim, é de se esperar uma variação excessiva.

Como já nos referimos anteriormente, em calamondin e trifoliata foi possível distinguir, pelo aspecto externo da semente, três tipos de poliembrionia, isto é, alta, média e baixa. De acôrdo com essa separação, fizemos para cada tipo e também para o conjunto (alta + média + baixa) um χ^2 teste entre as frequências observadas e aquelas esperadas, segundo a distribuição de Poisson.

Calamondin. O χ^2 teste total para o tipo de semente com alta poliembrionia não foi significativo. Esteve abaixo do limite de 5% de probabilidade.

Para os tipos de semente com média e baixa poliembrionia, bem como para o conjunto dos três tipos, o χ^2 teste foi altamente significativo, fora do limite de 1% de probabilidade. Em outras palavras : no calamondin, excetuando o tipo de sementes com alta poliembrionia, nos demais (média e baixa) ou em conjunto, a frequência observada nas classse de 0, 1, 2, etc., embriões adicionais não segue a distribuição de Poisson.

Analisando os χ^2 individuais para cada tipo de poliembrionia e também para a classe de zero embriões adicionais por semente, houve, para o conjunto, um grande excesso de embriões sôbre o número esperado, excesso êsse bem fora do limite de 1 ‰ de probabilidade ; na classe de 3 embriões adicionais por semente houve nos tipos de média poliembrionia e no conjunto, forte deficiência de embriões, fora do limite de 1 ‰ de probabilidade. No tipo de semente com baixa poliembrionia, houve, para a classe de 3 ou mais embriões adicionais, um excesso de frequência, o mesmo acontecendo no conjunto na classe com 7 ou mais embriões adicionais. É interessante notar que não sòmente no calamondin, como também na laranja lima e outros *Citrus* estudados, verificamos notável deficiência na classe de sementes com 3 embriões adicionais (ou 4 embriões ao todo), para a qual, até o momento, não encontramos uma explicação satisfatória.

Trifoliata. O χ^2 total não foi significativo, ficando abaixo do limite do 5% de probabilidade, para os tipos de sementes com alta e baixa poliembrionia e também para o conjunto de poliembrionia das sementes ; para o tipo de sementes com poliembrionia média, o χ^2 foi altamente significativo, fora do limite de 1 ‰ de probabilidade.

Analisando os χ^2 individuais para as sementes com tipo de poliembrionia média, notamos que houve uma deficiência de embriões na classe de zero embriões adicionais e um excesso de embriões na classe de 2 embriões adicionais, fatos demonstrados pelos valores fora do limite de 1% no primeiro caso, e bem próximo a êste limite, no segundo caso.

Disto concluimos : excetuando as sementes com poliembrionia do tipo médio, as demais, com alta e baixa poliembrionia, e também no conjunto dos três tipos a distribuição das frequências nas classes 0, 1, 2, etc. embriões adicionais, seguem a distribuição de Poisson.

Laranja lima. Aquí também o χ^2 total foi significativo, fora do limite de 1% de probabilidade. Conclui-se : na laranja lima a poliembrionia não segue a distribuição de Poisson. Os χ^2 individuais mostram um excesso de frequência na classe com 2 embriões adicionais e uma falta de frequência na classe com 3 embriões adicionais, o que é mostrado pelo χ^2 quase significativo no primeiro caso e significativo no segundo, fora do limite de 1% de probabilidade.

3. Variação entre plantas da mesma variedade

No quadro 3 registamos os dados referentes ao pomelo Mac Carty, separadamente dos de três outras plantas desta mesma espécie. Há razão especial para justificar êste fato. Como já foi mencionado em outro trabalho

(5), as plantas 3 e 8 do pomelo ? revelaram-se decididamente quase monoembriônicas, ao passo que a de número 7 produziu sementes com elevadíssima percentagem de poliembrionia. Tal anormalidade pode ser explicada à luz dos seguintes esclarecimentos : as 3 plantas registadas no quadro 3 como "pomelo ?" são "pés francos" provenientes, por sua vez, de um pomeleiro de "pé franco" (13, pg. 529). Por outro lado, não houve qualquer contrôle de polinização para obtenção das sementes que deram origem às referidas 3 plantas. Assim sendo, é possível, e até provável, tratar-se de plantas híbridas que apresentam caracteres bastante diversos.

Estudando as variações entre plantas nos experimentos de cavalos instalados na Estação Experimental de Limeira, Brieger e Moreira (5) constataram a "extrema heterogeneidade do **Pomelo** e **limão Ponderosa**, nos quais encontramos, desde copas cilíndricas com altura duas vêzes maior que o diâmetro, até copas redondas, nas quais a altura é aproximadamente igual ao diâmetro da copa". Ora, as plantas 3, 7 e 8 de "pomelo ?" (estampa 6) estão entre as 8 plantas estudadas por êsses autores.

QUADRO 12

POLIEMBRIONIA EM *CITRUS*

Variação da poliembrionia entre anos na mesma árvore

(Fecundação livre)

CITRUS DIVERSOS	N.º da árvore	Ano	Embriões $\bar{v}$	Poliembrionia %
Laranja lisa paulista	4	1943	2,2	66,1
		1944	2,2	67,6
Toranja vermelha	2	1943	1,0	1,1
		1944	1,0	0,0
Limão cravo	2	1944	1,2	10,3
	2	1945	2,1	75,8
	3	1944	1,2	17,5
	3	1945	1,8	62,4
	4	1944	1,5	38,2
	4	1945	2,1	82,0
Lima da Pérsia	2	1944	2.0	63.8
	2	1945	1,6	48,7
	3	1944	1,7	57,1
	3	1945	1,5	39,1
	4	1944	1,6	44.9
	4	1945	1,6	37,0

Pode-se ainda lembrar que os pomelos (*C. paradisi*) são, possìvelmente, híbridos resultantes do cruzamento toranja x laranja doce (*C. grandis* x *C. sinensis*), como admite Swingle (**20**; pgs. 418-419), o que explicaria o aparecimento em sua descendência, dos pés francos com elevada ou baixíssima (99,4% e 0,6%) percentagem de poliembrionia. Essas nossas constatações vêm justificar as dúvidas expressas por êste e outros autores em relação à posição taxonômica dos pomelos.

4. Variação entre colheitas de uma mesma planta em diferentes anos

Da contagem da poliembrionia pelo processo direto em algumas plantas e em diferentes anos (quadro 12) tiram-se algumas conclusões interessantes :

Na laranja lisa paulista (árvore 4) e na toranja vermelha (árvore 3), a primeira de alta, e a segunda de baixa ou nula poliembrionia, podemos notar que a variação entre os dois anos de 1943 e 1944 foi muito pequena e, portanto, sem importância. Todavia, para o limão cravo (árvores 2, 3 e 4) e lima da Pérsia (árvores 2, 3 e 4) observamos uma diferença da poliembrionia bastante acentuada entre os anos de 1944 e 1945 ; o mais interessante é que, para o limão cravo, em tôdas as 3 plantas estudadas, a poliembrionia foi de 2 a 4 vêzes maior em 1945 do que em 1946 e para lima da Pérsia, justamente o oposto, de 0,5 a 1 vêzes menor ; devemos concluir que dentro de uma mesma planta e em diferentes anos, podemos encontrar diferenças muito acentuadas na poliembrionia. Até o momento não temos uma explicação plausível para êste fenômeno, podendo-se invocar apenas a hipótese de Traub (**24**), segundo a qual, variando a alimentação em diferentes galhos de uma mesma planta, se pode alterar a poliembrionia nas sementes dos frutos produzidos nesses galhos ; assim, talvez a alimentação da planta em diferentes anos fôsse alterada pelas variações das condições ambientes, restando ainda a esclarecer porque em uma forma de *Citrus* a poliembrionia cresce e em outras decresce, durante os mesmos anos, na mesma localidade (Estação Experimental de Limeira) e em iguais condições ambientes.

RESUMO E CONCLUSÕES

1. O presente trabalho faz parte do plano de colaboração de estudo dos *Citrus* entre as secções de Citricultura, Genética, Citologia e Estação Experimental de Limeira do Instituto Agronômico, e a secção de Citologia e Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Trata de estudo detalhado da poliembrionia.

2. Em *Citrus* há três tipos poliembrionares : a) aquêle proveniente do crescimento das células do nucelo, originando embriões apogâmicos (**15**, figs. 15 a 18) ; b) aquêle que deriva de mais de um saco embrionário (**1**), obtendo-se assim 2 embriões híbridos, que podem ser ou não diferentes ; c) o que vem da divisão, por clivagem, do embrião sexual (**6**), produzindo indivíduos iguais.

3. A poliembrionia foi determinada por dois processos : a) contagem de embriões germinados e b) contagem direta de embriões na semente. Os resultados, em ambos os processos, foram expressos de dois modos diferentes : média do número total de embriões por semente e percentagem dos embriões excedentes, ou, como chamamos, percentagem de poliembrionia. Nos dois processos de contagem dos embriões, foram feitas determinações em sementes de 9 espécies de *Citrus*, *Poncirus trifoliata* e 4 híbridos, num total de 110 plantas (quadros 1 a 3).

Comparações entre os resultados obtidos nos dois processos constam do quadro 4, pelas quais se verifica que a única espécie monoembriônica foi a papeda (*C. hystrix*). Na contagem de embriões germinados, encontramos com **baixa** poliembrionia (0 a 15%) as toranjas (*C. grandis*), as laranjas azêda (*C. aurantium*), a lima da Pérsia (*C. aurantifolia*), o limão cravo ou Rangpur (*C. reticulata*?) e os limões (*C. limon*) doce, ponderosa, rugoso e sweet lemon ; de **média** poliembrionia (15 a 30%), o tangor maracujá (*C. sinensis* x *C. reticulata*) e laranjas doces (*C. sinensis*) ; de **alta** poliembrionia (+30%), pomelos (*C. paradisi*) e Calamondin (*C. reticulata* x *Fortunella*). No processo direto de contagem encontramos **baixa** poliembrionia (0 a 30%), nas toranjas (*C. grandis*) ; **média** poliembrionia (30 a 60%), nas laranjas azêda (*C. aurantium*), lima da Pérsia (*C. aurantifolia*), limão cravo (*C. reticulata*?), limões (*C. limon*) doce, ponderosa, rugoso e sweet lemon ; **alta** poliembrionia (+ 60%), no tangor maracujá (*C. sinensis* x *C. reticulata*), laranjas doces (*C. sinensis*), pomelos (*C. paradisi*), Calamondin (*C. reticulata* x *Fortunella*), Trifoliata (*Poncirus trifoliata*), e em uma forma de pomelo (*C. paradisi*?). Nas laranjas doces e no trifoliata encontramos sementes com 10 até 15 embriões e no calamondin e pomelo (?) até com 20 embriões (estampa 3, figs. **a** e **b**). Tendo-se também determinado a poliembrionia de algumas plantas pelos dois processos, pôde-se fazer uma comparação individual (quadro 5).

4. Os embriões podem ter nas sementes posições várias além da normal ; podem êles estar localizados no meio da semente e até em situação oposta ao micrópilo ; os embriões grandes e médios (de 14 a 5 mm), germinam fàcilmente em terra preparada, e os pequenos (de 5 a 2 mm), só germinam em agar com solução nutritiva ; embriões muito pequenos, menores de 2 mm, não germinam, nem nesse meio de cultura. Nas formas altamente poliembriônicas, as sementes podem ser separadas pelas suas anfratuosidades, em 3 graus de poliembrionia: alta, média e baixa (estampas 4 e 5).

5. A análise da variabilidade de poliembrionia, revelou : a) Entre frutos de uma mesma planta e da mesma colheita (quadros 10 e 11) ; foram usados o pomelo Mac Carty e o Trifoliata ; a análise estatística revelou que no pomelo Mac Carty a variação da poliembrionia em diferentes frutos foi de acaso, segundo a distribuição de Poisson ; no trifoliata, a variação observada foi sistemàticamente menor que a esperada segundo a distribuição de Poisson, o que aliás, biològicamente, é difícil de se explicar. b) Entre sementes de uma mesma planta ; foi observado que em algumas formas de *Citrus*, a frequência observada de sementes com 1, 2, 3, etc. embriões, seguiu a distribuição de Poisson (pomelo Mac Carty, laranja

lisa paulista e limão cravo) e em outras formas não (laranja lima) ; nas demais formas analisadas (Calamondin e Trifoliata) foram separados 3 graus de poliembrionia : baixa, média e alta, havendo resultados diferentes para cada grau. c) Entre plantas da mesma variedade; conforme mostra o quadro 3, no pomelo (?) houve uma planta (número 7) que se distinguiu, por ter uma elevadíssima percentagem de poliembrionia, das suas irmãs que eram quase monoembriônicas ; sendo essas plantas oriundas de sementes de polinização livre, é bem possível que se trate de um híbrido (*C. grandis* x *C. sinensis*). d) Entre colheitas de uma mesma planta em diferentes anos (quadro 12) constatou-se que a poliembrionia variou bastante de um ano para outro na mesma planta. Em algumas plantas ela aumentou e em outras diminuiu, nos mesmos anos.

6. O grau de poliembrionia em uma variedade ou forma de *Citrus* pode variar de semente para semente, de fruto para fruto, de árvore para árvore e até de ano para ano, na mesma planta. A determinação do número de embriões adicionais em sementes de um ou alguns frutos de uma variedade cítrica não oferece base segura para se avaliar o grau de poliembrionia dessa variedade.

Para se ter uma idéia exata sôbre o grau de poliembrionia de uma variedade ou forma cítrica é necessário que sejam examinadas muitas sementes, provenientes de vários frutos produzidos em diversas plantas e de mais de uma colheita. A determinação deve ser feita pela contagem direta dos embriões nas sementes, porquanto na contagem em sementeira, após a germinação, sempre se obtém um grau de poliembrionia inferior ao real.

AGRADECIMENTOS

Deixamos aqui consignados os nossos agradecimentos aos Srs. : Eng. Agr. A. J. Rodrigues Filho e Prof. Felipe W. Cabral de Vasconcelos, pelo fornecimento de material dos pomares da Estação Experimental de Limeira e da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", em Piracicaba ; Eng. Agr. C. A. Krug e Prof. F. G. Brieger, pelas sugestões e ajuda dispensadas no decorrer do trabalho.

SUMMARY

The studies on polyembryony in *Citrus* reported in this paper show that there is a great variability in the degree of polyembryony among the seeds, fruits and trees of a same form or variety of *Citrus*. Seeds from different crops of the same plant also show considerable variation in the degree of polyembryony.

In order to obtain reliable data on the degree of polyembryony in *Citrus* the samples for study should include a great number of seeds taken from several fruits of different trees. Since there is a yearly variation on the degree of polyembryony it was found necessary to study samples from several crops.

The average number of embryos was determined by direct examination of individual seeds. Determinations based on the number of plants developed from every seed always give lower results as many embryos do not grow into seedlings.

LITERATURA CITADA

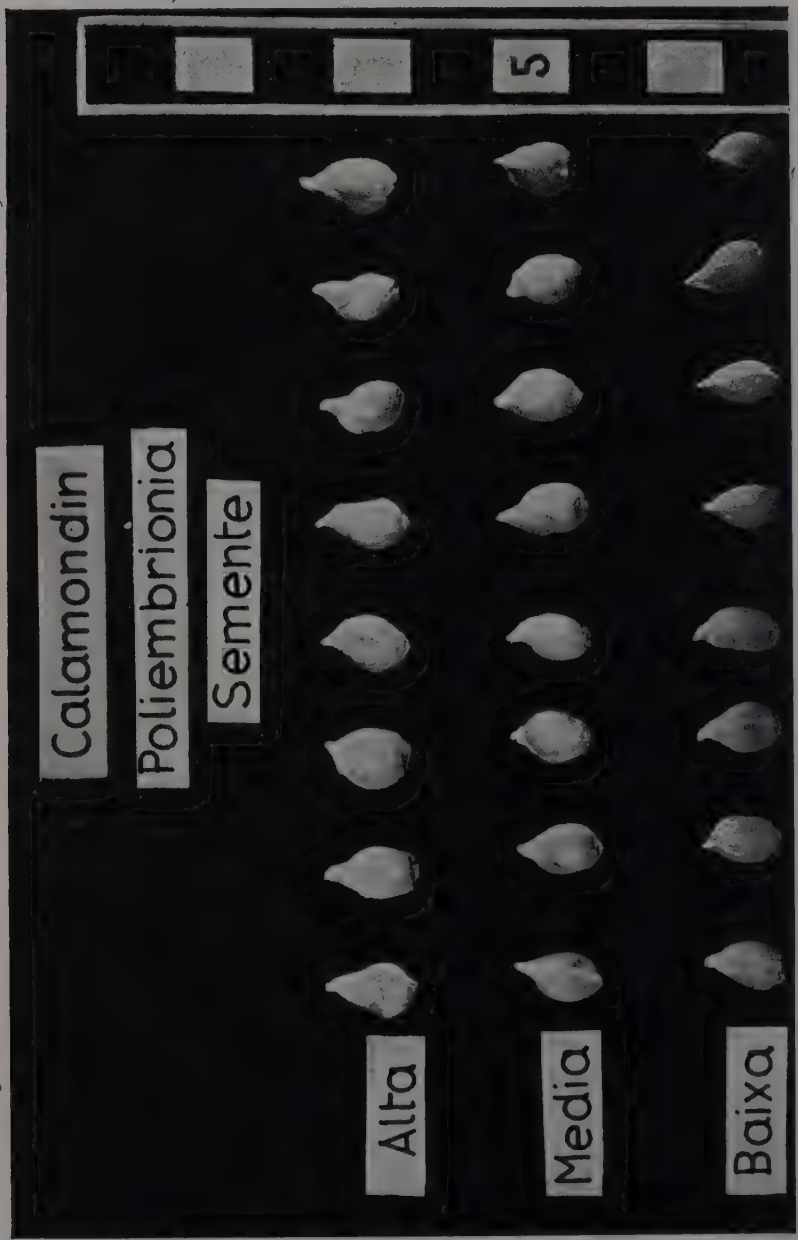
1. **Bacchi, O.** Observações citológicas em *Citrus* III. Megasporogênese, fertilização e poliembrionia. Bragantia **4** : 405–412. 1944.
2. **Brieger, F. G.** Limites unilaterais e bilaterais na análise estatística. Bragantia **6** : 479–545. 1946.
3. **Brieger, F. G., S. Moreira** e **Z. Leme.** Estudo sôbre melhoramento da laranja Baía III. Bragantia **1** : 567–610. 1941.
4. **Brieger, F. G., A. R. Lima** e **R. Forster.** Comportamento de varideades e progênies de fumo na resistência ao "vira-cabeça". Bragantia 2 : 275–294. 1942.
5. **Brieger, F. G.** e **S. Moreira.** Experiências de cavalos para *Citrus* II. Bragantia **5** : 597–658, figs. 1 a 5. 1945.
6. **Frost, H. B.** Poliembryony, Heterozygosis and Chimeras in Citrus. Hilgardia **1** : 365–402. 1926.
7. **Frost, H. B.** The Genetics and Citology of Citrus. Current. Sci. Especial Number of Genetics : 24–27. 1938.
8. **Frost, H. B.** *Em* Citrus Industry I (History, Botany, and Breeding) pg. 767–913. Univ. Cal. Press, Berkeley e Los Angeles, U.S.A., 1943.
9. **Gurgel, J. T. A.** Análise Estatística da Distribuição de Poisson. Anais da E.S.A. "Luiz de Queiroz" **2** : 300–319. 1945.
10. **Hatton, R. G.** Investigations on Standarlization of Citrus Trees by Propagation Methods. Imp. Bur. Fruit. Production, Tech. Comm. **3** :. 1932
11. **Hodgson, R. W.** Effects on reproduction by nucellar embriony on clonal characteristics in Citrus. Jour. Heredity **29** : 417–419. 1938.
12. **Krug, C. A.** e **O. Bacchi.** Observações citológicas em *Citrus* II. Variedades triplóides. Bragantia **4** : 393–404. 1944.
13. **Moreira, S.** Experiências de cavalos para *Citrus* I. Bragantia **1** : 525–565. 1941.
14. **Moreira, S.** Observações sôbre a tristeza dos *Citrus* ou podridão das radicelas. O Biológico **8** : 269–272. 1942.
15. **Moreira, S.** e **J. T. A. Gurgel.** A fertilidade do pólen e sua correlação com o número de sementes, em espécies e formas do gênero *Citrus*. Bragantia **1** : 669–711. 1941.
16. **Navarro de Andrade, E.** *Em* Manual de Citricultura (I. Parte). Ed. Chácaras e Quintais, pág. 1–198. S. Paulo, 1933.
17. **Osawa, I.** Cytological and experimental studies in Citrus. Jour. Col. Agr. Imp. Univ. Tokyo **4** : 83–116. 1912.
18. **Strassburger, E.** Ueber Polyembryonie. Jenaische Ztschr. fur Naturw. **12** : 647–667. 1878.
19. **Swingle, W. T.** Recapitulation of seedling characters by nucellar buds developing in the embryo sac of Citrus. Proceed. Sixtti Internat. Cong. Genetics **2** : 196–197. 1932.
20. **Swingle, W. T.** *Em* Citrus Industry I (History, Botany and Breeding), pg. 129–472, Univ. Cal. Press., Berkeley e Los Angeles, U.S.A., 1943.
21. **Torres, J. P.** Progress report on Citrus Hybridization. The Philip. Jour. Agric. **3** : 217–229. 1932.
22. **Torres, J. P.** Polyembriony in Citrus and study of hybrid seedlings. Philip. Jour. Agr. **7** : 37–58. 1936.
23. **Toxopeus, H. J.** De Polyembrionie Van Citrus. Haar Beteekenis Voor de Cultuur, Landbouw. **6** : 1–15, 1930/31.
24. **Traub, Hamilton P.** Artificial control of nucellar embryony in Citrus. Science **83** : 165–166. 1936.
25. **Webber, H. J.** Complications in Citrus hybridization caused by polyembriony. Science **11** : 308. 1900.
26. **Webber, H. J.** The economic importance of apogamy in Citrus and Mangifera. Proceed. Amer. Soc. Hort. Sci. **28** : 57–61. 1931.
27. **Webber, H. J.** Variation in Citrus Seedling and their Relation to Rootstock Selection. Hilgardia **7** : 1–79. 1932.
28. **Webber, H. J.** *Em* Citrus Industry I (History, Botany and Breeding) pg. 475–668, Univ. Cal. Press, Berkeley e Los Angeles, U.S.A., 1943.

Est. 3

a) — Três sementes de baixa poliembrionia, em laranja azêda, representadas em três etapas : ao serem retirados o integumento e a película ; posição relativa dos embriões e embriões abertos, mostrando os cotilédones. Pode-se notar a posição e o tamanho dos embriões, e também dos seus cotilédones.

b) — Três sementes de alta poliembrionia, em Calamondin, representadas nas mesmas etapas como indicado em **a.**

Est. 4

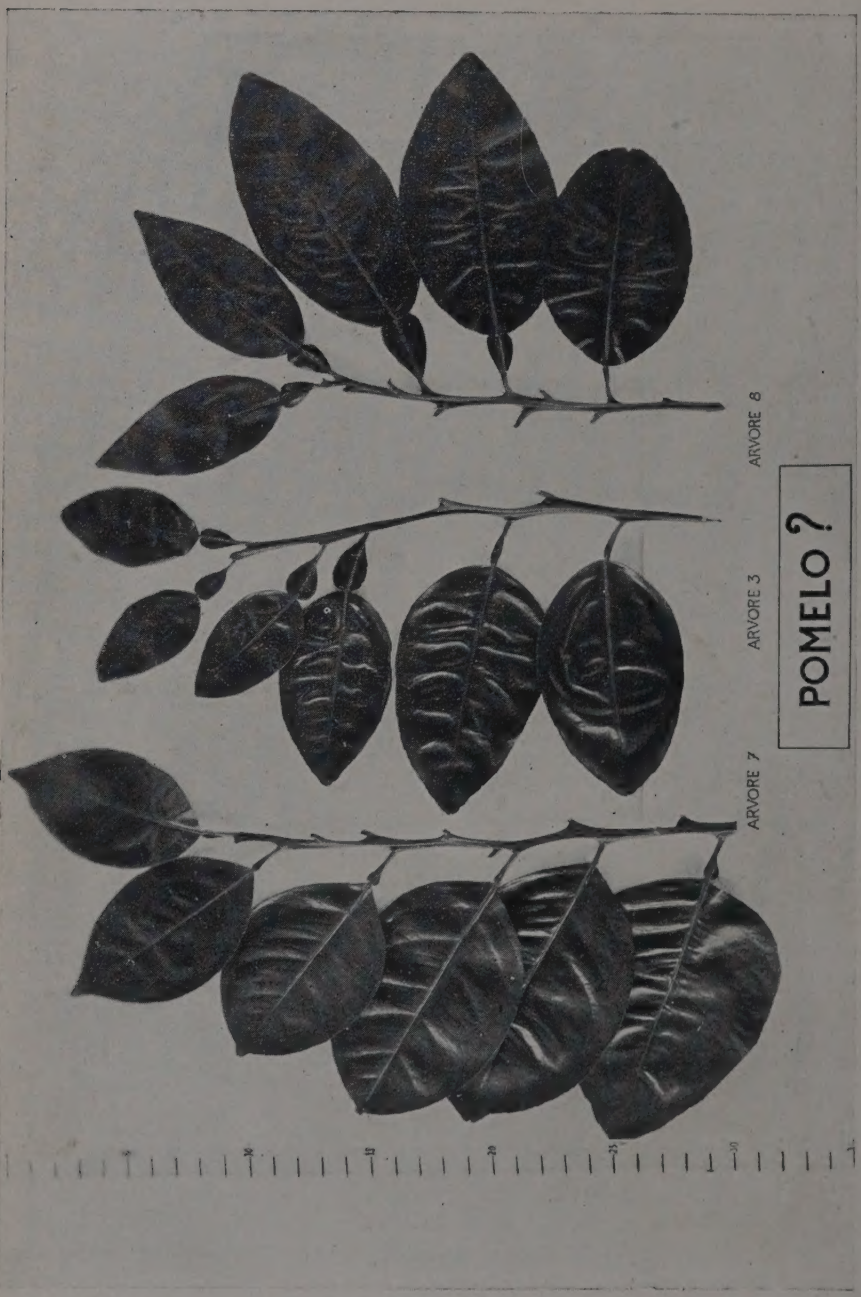


Sementes poliembriônicas de Calamondin, onde foi possível, pelo aspecto externo da semente, separar três classes de poliembrionia: baixa, média e alta.

Est. 5

As mesmas sementes da Est. 4, das quais foram retirados o integumento e a película, deixando ver os embriões.

Est. 6



Mostrando as diferenças das fôlhas em ramos das três plantas de *Pomelo* (?). A árvore 7 é altamente poliembriônica (99,4%); as árvores 3 e 8 são quase monoembriônicas (0,6% e 1,5%).

SECÇÕES TÉCNICAS

Secção de Agrogeologia: — J. E. Paiva Neto, Mário Seixas de Queiroz, Marger Gutmans, José Setzer, Alcir César Nascimento, Alfredo Küpper, Renato Amilcare Catani.

Secção de Botânica: — A. P. Viégas, Alcides Ribeiro Teixeira, Luiza Cardoso, Ciro G. Teixeira.

Secção de Café: — J. E. Teixeira Mendes, João Aloisi Sobrinho.

Secção de Cereais e Leguminosas: — Gláuco Pinto Viégas, Neme Abdo Neme, H. Silva Miranda, Emílio Bruno Germeck, Milton Alcover.

Secção de Fumo, Plantas Inseticidas e Medicinais: — Abelardo Rodrigues Lima, S. Ribeiro dos Santos, Ademar Jacob.

Secção de Cana de Açúcar: — José Vizioli (Chefe efetivo), Sebastião de Campos Sampaio (Chefe substituto).

Secção de Oleaginosas: — Pedro T. Mendes, Otacílio Ferreira de Sousa.

Secção de Química Mineral: — João B. C. Neri Sobrinho, Afonso de Sousa Gomide.

Secção de Raízes e Tubérculos: — Jorge Bierrenbach de Castro, Olavo J. Boock, Edgard S. Normanha, A. P. Camargo, Arakem S. Pereira.

Secção de Tecnologia Agrícola: — Augusto Frota de Sousa, Francisco Alves Correia, José Pio Neri, Ari de Arruda Veiga.

Secção de Técnica Experimental e Cálculos: — Constantino Fraga Júnior, Armando Conagin.

Secção de Fisiologia e Alimentação das Plantas: — Coaraci M. Franco, Osvaldo Bacchi, Romeu Inforzato.

Secção de Tecnologia de Fibras.

ESTAÇÕES EXPERIMENTAIS

Boracéia: —
Central de Campinas: — Paulo Cuba.
Ubatuba: — Miguel Anderson. Rafael Munhoz.

Jundiaí: — E. Paula Guião.
Limeira: — A. J. Rodrigues Filho.
Pindorama: — Rubens A. Bueno.
Piracicaba: — Homero C. Arruda.
Ribeirão Preto: — O. Augusto Mamprim.
São Roque: — J. Seabra Inglês de Sousa.
Sorocaba: — José Moreira Sales.
Tatuí: — Walter Lazzarini.
Tietê: — Vicente Gonçalves de Oliveira.
Tupi: — Argemiro Frota.

SUB-ESTAÇÕES EXPERIMENTAIS

Capão Bonito: — Wilson Correia Ribas.
Mococa: — Lineu C. de Sousa Dias.
Jaú: — Hélio de Morais.
Santa Rita: — Manoel Saraiva Júnior.
Monte Alegre: — Antônio Gentil Gomes.
Pindamonhangaba: — Roberto Alves Rodrigues.
S. Bento do Sapucaí.

IMPRIMIU:
INDÚSTRIA GRÁFICA SIQUEIRA S/A.
SÃO PAULO